



# DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Einfluss der Partikelcharakteristika auf die Interaktion  
mit humanen Zellen unter Flussbedingungen

Verfasserin

Astrid Fischer

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.parm.)

Wien, 2012

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt: Pharmazie

Betreuerin / Betreuer: Ao. Univ-Prof. Mag. Dr. Franz Gabor



Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern, die durch ihre Unterstützung und ihr Interesse sehr viel zu meinem Studium beigetragen haben.

Weiters danke ich Hr. Ao. Univ-Prof. Mag. Dr. Franz Gabor für die gute Betreuung während meiner Diplomarbeit. Auch seinem Team, insbesondere Fr. Mag. Xueyan Wang danke ich für die praktische Hilfestellung und fachliche Beratung.



## **INHALTSVERZEICHNIS**

1	EINLEITUNG.....	1
2	MATERIALIEN UND METHODEN .....	3
2.1	Materialien .....	3
2.2	Methoden .....	3
2.2.1	Oberflächenmodifikation der Partikel.....	3
2.2.2	Herstellung von 3D-Mikrokanälen und Zellkultur .....	6
2.2.3	SAW-Chip.....	7
2.2.4	Bestimmung der Flussgeschwindigkeit .....	8
2.2.5	Versuchsablauf und Inkubationsbedingungen .....	8
3	ERGEBNISSE UND DISKUSSION .....	10
3.1	Allgemeines.....	10
3.2	Caco-2 .....	11
3.2.1	Einfluss der Partikelgröße auf die Partikel-Zell-Interaktion.....	11
3.2.2	Einfluss der Oberflächenbeschaffenheit auf die Partikel-Zell-Interaktion .....	14
3.2.3	Einfluss der Flussgeschwindigkeit auf die Partikel-Zell-Interaktion.....	16
3.2.4	Einfluss der Inkubationsbedingungen auf die Partikel-Zell-Interaktion.....	18
3.3	SV-HUC-1 .....	21
3.3.1	Einfluss der Partikelgröße auf die Partikel-Zell-Interaktion.....	21
3.3.2	Einfluss der Oberflächenbeschaffenheit auf die Partikel-Zell-Interaktion .....	22
3.3.3	Einfluss der Inkubationsbedingungen auf die Partikel-Zell-Interaktion.....	23
3.4	Zusammenfassende Diskussion und Ausblick .....	26
4	ZUSAMMENFASSUNG.....	28
5	ABSTRACT.....	30
6	LITERATURVERZEICHNIS .....	32
7	LEBENS LAUF .....	33
8	ANHANG .....	34
8.1	Kalibrationsgeraden .....	34
8.1.1	Kalibrationsgeraden zu den 1µm Partikeln .....	34
8.1.2	Kalibrationsgeraden zu den 3µm Partikeln.....	35
8.1.3	Kalibrationsgeraden zu den 6µm Partikeln.....	36
8.1.4	Kalibrationsgeraden zu den 10µm Partikeln.....	37
8.2	Zellversuche Caco-2.....	38
8.2.1	Rohdaten zu den 1µm Partikeln .....	38
8.2.2	Rohdaten zu den 3µm Partikeln .....	45
8.2.3	Rohdaten zu den 6µm Partikeln .....	52
8.2.4	Rohdaten zu den 10µm Partikeln .....	59
8.3	Zellversuche SV-HUC-1 .....	66
8.3.1	Rohdaten zu den 1µm Partikeln .....	66
8.3.2	Rohdaten zu den 3µm Partikeln .....	69
8.3.3	Rohdaten zu den 6µm Partikeln .....	72
8.3.4	Rohdaten zu den 10µm Partikeln .....	75



# **1 EINLEITUNG**

Bei der Verabreichung von Arzneimitteln kommt nicht nur dem Arzneistoff selbst, sondern auch dessen Galenik eine wesentliche Bedeutung zu. Eine relativ neue Entwicklung in der pharmazeutischen Technologie ist das Einbringen des Wirkstoffs in Nano- und Mikropartikel. Dabei kann dieser diffus in einer Matrix verteilt vorliegen oder durch spezielle Verfahren verkapselt werden. Derart verarbeitete Arzneistoffe können in traditionelle Arzneiformen eingearbeitet und so dem Körper auf verschiedene Art und Weise zugeführt werden. Die Verpackung des Arzneistoffes in Mikroarzneiformen hat einige vielversprechende Vorteile. Einerseits ist der Arzneistoff im Inneren des partikulären Trägersystems vor Lagerinstabilität, Metabolisierung und Elimination geschützt, was insbesondere beim Einsatz von Biomolekülen wie Peptiden, Proteinen oder Aptameren von entscheidender Bedeutung ist. Andererseits kann auch die Freisetzung aus dem selbigen gezielt gesteuert werden. So wird die Freisetzungsgeschwindigkeit des Wirkstoffes beispielsweise durch das Matrixmaterial beeinflusst. Weiters kann durch Oberflächenmodifikation der Partikel die Affinität zum Zielgewebe beeinflusst werden. Dabei sind vor allem spezifische biorekognitive Mechanismen von Bedeutung, die durch Beschichtung der Partikeloberfläche mit bioadhäsiven Liganden hervorgerufen werden können. Dafür kommen unter anderem Antikörper, RGD-Peptide oder Aptamere infrage. Ferner können hydrophobe Wechselwirkungen die Partikeladhäsion positiv beeinflussen, die durch Oberflächenbehandlung der Partikel beispielsweise mit Chitosan, Natriumalginat oder Zellosederivaten erzielt werden. Auch ionische Wechselwirkungen können bei der Partikel-Zell-Interaktion eine Rolle spielen. [1] Durch eine entsprechende Oberflächenmodifikation der Partikel kann demzufolge eine spezifische Anreicherung im entsprechenden Gewebe erzielt werden. Dadurch werden toxische Effekte im gesunden Gewebe verringert. Im Vergleich zu herkömmlich verarbeiteten und sich im Körper meist diffus verteilenden Arzneistoffen kann durch die selektive Bioadhäsion der Mikropartikel zusätzlich eine Reduktion der therapeutischen Dosis erreicht werden. Eine Minimierung der Nebenwirkungsrate und mögliche Verringerung der Einnahmefrequenz üben auch einen positiven Einfluss auf die Compliance der Patienten gegenüber dem Arzneimittel aus.

Ein biologisch, technologisch und ökonomisch wichtiges Kriterium für Mikroarzneiformen ist der Partikeldurchmesser. In Trägersysteme aus größeren Partikeln kann vergleichsweise mehr Arzneistoff eingebaut werden, die modifizierbare Oberfläche fällt - bezogen auf das Volumen - jedoch geringer aus. Zusätzlich ist zu erwarten, dass eine Veränderung des Partikeldurchmessers einen entscheidenden Einfluss auf die Verteilung der Mikropartikel im Körper und deren Interaktionen mit den entsprechenden Geweben ausübt. Um derartige Einflüsse optimal untersuchen zu können, werden gut charakterisierte in-vitro Testmodelle benötigt, welche die Bedingungen im Körper möglichst realitätsgetreu simulieren. Sowohl die Distribution der Mikropartikel als auch die Wechselwirkung zwischen Partikel und Zelle hängen allerdings wesentlich von der

Dynamik im Körper ab. Daher wurden verschiedene Testsysteme entwickelt, um diese Parameter in das Versuchsmodell zu integrieren und die Fluidik im Körper simulieren zu können. Da sowohl in der Nano- und Mikrotechnologie als auch in der Zellkultur die Probenvolumina sehr begrenzt sind, arbeitet man optimaler Weise mit miniaturisierten Chiplabors. Das bietet auch den Vorteil, dass in der Mikrofluidik auftretende Viskositäten und Scherkräfte bestimmte Dynamiken im Körper besser wiedergeben als ein makroskopischer Versuchsaufbau. [2] Von besonderem Interesse sind bei derartigen Mikrofluidsystemen die entsprechenden Pumpmechanismen. Ideal sind nicht invasive Pumpen, die sich dennoch präzise regulieren lassen. Um Flüssigkeiten in Bewegung zu setzen, kann zum Beispiel Elektro-Osmose oder Zentrifugalkraft eingesetzt werden. Auch die gasbetriebene Peristaltikpumpe ist eine elegante, jedoch aufwändige Möglichkeit, geringe Probenmengen kontrolliert zu bewegen. [2] Eine weitere, nicht invasive Pumptechnik für die Mikrofluidik wurde von Achim Wixforth (Advalytix AG sowie Universität Augsburg) etabliert. Sie erzeugt mittels piezoelektrischem Effekt ein „Nanoerdbeben“ und induziert dabei akustische Oberflächenwellen. [3] Da diese Schwingungen nur einen dünnen Wasserfilm benötigen, um auf das Chiplabor übergreifen, ist dies eine einfach handhabbare und dennoch sehr effiziente Technologie.

Im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit sollte mithilfe eines derartigen Surface-Acoustic-Wave-Chip (SAW-Chip) untersucht werden, inwieweit die Partikelgröße und Oberflächenmodifikation unter verschiedenen Inkubationsbedingungen die Interaktion der Mikropartikel mit dem Zellmonolayer beeinflussen. Als Versuchsmodelle wurden die humanen Zelllinien Caco-2 und SV-HUC-1 verwendet. Erstere ist ein häufiges Basismodell für die Zellkultur und wird aufgrund ihrer physiologischen Ähnlichkeit zu Dünndarmepithelzellen vor allem verwendet, um Resorptionsvorgänge im menschlichen Verdauungstrakt zu simulieren. [4] SV-HUC-1 Zellen hingegen entsprechen gesunden menschlichen Blasenepithelzellen und sind daher als Versuchsmodell für in die Blase verabreichte Mikroarzneiformen von Interesse. [5] Die in verschiedenen Größen verwendeten Polystyrol-Mikropartikel enthalten einen fluoreszierenden Farbstoff, wodurch sie anhand von Kalibrationsgeraden einfach quantifiziert werden können. Zur Steigerung der Bioadhäsion wird die Partikeloberfläche mit Wheat-Germ-Agglutinin (WGA) modifiziert, einem aus *Tricium vulgare* stammenden Lektin. Es besteht aus zwei identen Untereinheiten und hat vier unabhängige Zuckerbindungsstellen, an denen es mit N-Acetyl-D-Glucosamin sowie Sialinsäure-Teilstrukturen interagieren kann. Da diese Zucker Bestandteile der Glykokalix darstellen, bewirkt die Oberflächenmodifikation mit WGA eine erhöhte Interaktion zwischen Partikel und Zelle. [6, 7]

Als Schwerpunkt der vorliegenden Diplomarbeit soll vor allem der Einfluss der Partikelgröße auf das Interaktionsverhalten mit Zellen unter dynamischen Bedingungen untersucht werden. Daher erfolgen die Inkubationen bei verschiedenen Flussgeschwindigkeiten.



## **2 MATERIALIEN UND METHODEN**

### **2.1 Materialien**

1µm grün fluoreszierende Mikropartikel: Fluoresbrite® YG Microspheres, carboxylierte Oberfläche, mittlerer Durchmesser 1,029µm, Standardabweichung 0,01µm; Polysciences Europe GmbH, Eppelheim, Deutschland.

3µm grün fluoreszierende Mikropartikel: Fluoresbrite® YG Microspheres, carboxylierte Oberfläche, mittlerer Durchmesser 3,135µm, Standardabweichung 0,073µm; Polysciences Europe GmbH, Eppelheim, Deutschland.

6µm grün fluoreszierende Mikropartikel: Fluoresbrite® YG Microspheres, carboxylierte Oberfläche, mittlerer Durchmesser 6,33µm, Standardabweichung 0,366µm; Polysciences Europe GmbH, Eppelheim, Deutschland.

10µm grün fluoreszierende Mikropartikel: Fluoresbrite® YG Microspheres, carboxylierte Oberfläche, mittlerer Durchmesser 9,076µm, Standardabweichung 0,29µm; Polysciences Europe GmbH, Eppelheim, Deutschland.

Weizenlektin: Unconjugated Wheat Germ Agglutinin (WGA), lyophilisiertes Lektin, homogen laut SDS-PAGE; Vector Laboratories Inc., Burlingame, U.S.A..

Polymer zur Herstellung des Kanals: Sylgard® 184 Silicone Elastomer kit; Dow Corning GmbH, Wiesbaden, Deutschland.

Alle anderen verwendeten Reagenzien sind vom Reinheitsgrad „pro analysi“.

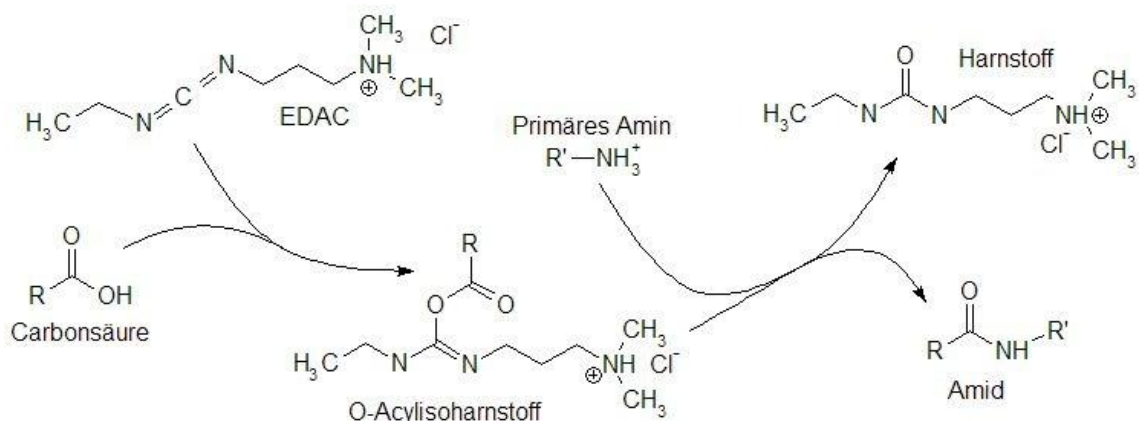
### **2.2 Methoden**

#### **2.2.1 Oberflächenmodifikation der Partikel**

Zur Kopplung von WGA an die carboxylierte Oberfläche der Polystyrol-Partikel wurde die Carbodiimid-Methode unter Verwendung von 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) (EDAC) und N-Hydroxysuccinimid (NHS) eingesetzt.

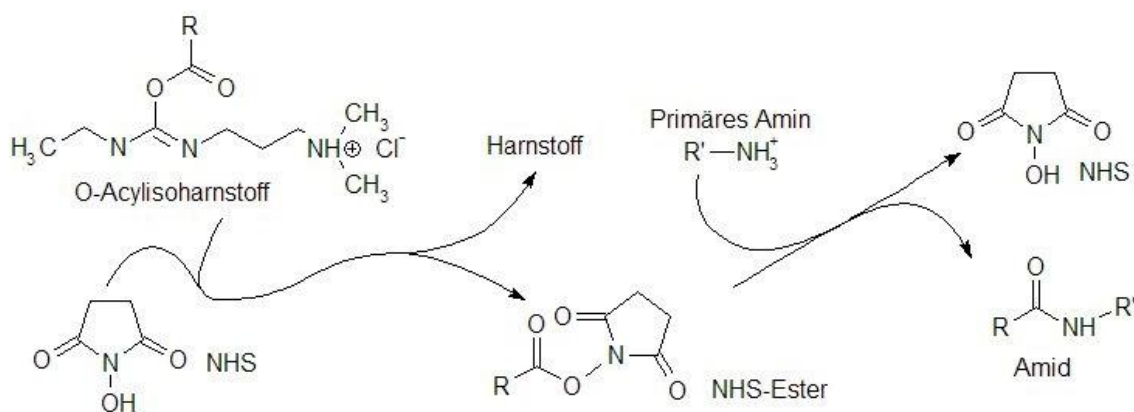
Bei dieser Methode wird eine frei vorliegende Carbonsäure-Gruppe mittels Carbodiimid zum instabilen O-Acylisoharnstoff umgesetzt. Dieses kurzlebige, hoch reaktive Zwischenprodukt reagiert in Anwesenheit von primären Aminen zum wesentlich stabileren Amid, wobei Harnstoff als Nebenprodukt entsteht. (siehe Abb. 1)

Die Kurzlebigkeit des O-Acylisoharnstoff-Derivates stellt dabei jedoch ein Problem dar, weil das instabile Intermediat in der Gegenwart von Wasser innerhalb von Sekunden hydrolysiert. In dieser kurzen Zeitspanne ist die Bindungswahrscheinlichkeit mit dem gewünschten Zielmolekül gering. [8]



**Abbildung 1:** EDAC reagiert mit einer Carbonsäure zum instabilen O-Acylisoharnstoff. Dieser reagiert bei Anwesenheit eines primären Amins zu einem Amid und Harnstoff.

Um dieses Problem effizient zu umgehen, wird mittels NHS ein wesentlich stabileres Zwischenprodukt gebildet. In Gegenwart von NHS in ausreichender Menge kommt es zur Bildung eines NHS-Esters. Da dieser über Stunden im Reaktionsgemisch stabil ist, wird die Bindungswahrscheinlichkeit mit dem Zielprotein erheblich erhöht. Die primäre Amino-Gruppe des gewünschten Liganden reagiert unter Freisetzung des NHS zum entsprechenden Amid der ursprünglichen Carbonsäure. (siehe Abb. 2)



**Abbildung 2:** Aus dem instabilen O-Acylisoharnstoff bildet sich in Anwesenheit von NHS ein stabileres Zwischenprodukt (NHS-Ester). Dieser Ester reagiert mit primären Aminen unter Freisetzung von NHS zum Amid.

Da die Aktivierung der Carbonsäure idealerweise im schwach sauren bis neutralen pH-Bereich durchgeführt wird, eine optimale Kopplung jedoch im basischen pH-Bereich erreicht wird, ist es sinnvoll, diese Schritte getrennt voneinander durchzuführen. Dadurch kann die Kopplungseffizienz erhöht werden. [9]

Um den unterschiedlichen Verhältnissen von Oberfläche zu Volumen bei den verschiedenen Partikelgrößen Rechnung zu tragen, wurden die jeweils benötigten Mengen an Reagenzien auf die zu modifizierende Oberfläche bezogen. Aus den mathematischen Formeln zur Berechnung von Kugeloberfläche und Kugelvolumen ergibt sich das Verhältnis von Oberfläche zu Volumen. Davon ausgehend kann das Verhältnis der Oberflächen der verschiedenen Partikelgrößen zum Gesamt-Volumen ermittelt werden.

$O_{Kugel} = \pi * d^2$	$V_{Kugel} = \frac{1}{6} * \pi * d^3$	$\frac{O}{V} = \frac{\pi * d^2}{\frac{1}{6} * \pi * d^3} = \frac{6}{d}$
$O_{1\mu m} : O_{3\mu m} : O_{6\mu m} : O_{10\mu m} = \frac{6}{1} : \frac{6}{3} : \frac{6}{6} : \frac{6}{10} = 1 : \frac{1}{3} : \frac{1}{6} : \frac{1}{10}$		

**Tabelle 1:** Berechnung der Verhältnisse von Oberfläche (O) zum Gesamt-Volumen (V) bei unterschiedlichen Partikeldurchmessern (d). Die Längenangaben entsprechen den Durchmessern der Partikel.

Die zur Durchführung der Kopplung tatsächlich eingesetzten Mengen und Konzentrationen an Reagenzien sind in Tabelle 2 angeführt.

#### Praktische Durchführung:

500µl Partikelsuspension und 500µl Aktivierungslösung werden zwei Stunden bei Raumtemperatur am End-Over-End-Mischer inkubiert. Nach Zusatz von 500µl 20mM HEPES/NaOH-Puffer pH 8,0 mit 0,1% Pluronic<sup>®</sup> F-68 werden die Partikel abzentrifugiert und zweimal mit je 1500µl des gleichen Puffers gewaschen. Die anschließend nochmals abzentrifugierten Partikel werden in 1ml dieses Puffers resuspendiert.

Zur Darstellung von WGA-modifizierten Partikeln wird das benötigte Volumen einer WGA-Stammlösung (2mg/ml) zugesetzt und über Nacht am End-Over-End-Mischer bei Raumtemperatur inkubiert. Zur Absättigung reaktiver Bindungsstellen wird die benötigte Menge an gesättigter Glycin-Lösung zugesetzt (siehe Tabelle 2) und weitere fünf Stunden am End-Over-End-Mischer inkubiert.

Zur Darstellung von Glycin-modifizierten Partikeln wird die benötigte Menge an gesättigter Glycin-Lösung zugesetzt und ebenfalls über Nacht am End-Over-End-Mischer inkubiert.

Partikelgröße	1µm	3 µm	6 µm	10 µm	Medium
Partikel-suspension	1mg	1mg	2mg	2mg	in 500µl 20mM HEPES pH 7,0
Aktivierungs-lösung	281mg EDAC 11,7mg NHS	94mg EDAC 3,9mg NHS	94mg EDAC 3,9mg NHS	56mg EDAC 2,3mg NHS	in 500µl 20mM HEPES pH 7,0
WGA-Lösung	300µl	100µl	100µl	60µl	2mg/ml in Wasser
Glycinlösung	242µl	81µl	81µl	48µl	gesättigt in Wasser
Zentrifugation	10.000rpm 3min/4°C	10.000rpm 2min/4°C	5.000rpm 2min/4°C	2.000rpm 2min/4°C	

**Tabelle 2:** Zur Oberflächenmodifikation eingesetzte Mengen und Konzentrationen an Reagenzien und Zentrifugationsbedingungen bei unterschiedlichen Partikelgrößen. Die Lösungen werden bei Raumtemperatur hergestellt.

Nach der Oberflächenmodifikation werden die Suspensionen mit je 200µL 20mM HEPES/NaOH-Puffer pH 7,4 mit 0,1% Pluronic<sup>®</sup> F-68 versetzt und die Partikel anschließend in drei Schritten mit je 1500µl desselben Puffers durch Zentrifugieren und

Resuspendieren gewaschen, abermals zentrifugiert und in 1ml dieser Pufferlösung resuspendiert. Die Lagerung erfolgt bei 4°C unter Lichtausschluss.

Sämtliche Untersuchungen wurden vergleichsweise mit WGA-modifizierten Partikeln, Glycin-modifizierten Partikeln und unbehandelten Partikeln durchgeführt. An Hand von Kalibrationsgeraden wurden jeweils Partikelsuspensionen mit einer Konzentration von 40µg/ml für die folgenden Zellversuche hergestellt.

## 2.2.2 Herstellung von 3D-Mikrokanälen und Zellkultur

Die 3D-Mikrokanäle des Versuchssystems bestehen aus Polydimethylsiloxan, einem elastischen, chemisch inerten, temperaturbeständigen Polymer. Durch die Fixierung dieser Kanäle an speziell vorbehandelte Glasplatten und anschließender Sterilisation stand ein Versuchsmodell zur Verfügung, in welchem ein Zellmonolayer kultiviert werden kann.

Zur Herstellung der 3D-Mikrokanäle werden 10g Basisreagenz mit 1g Vernetzungsmittel gut vermischt und für ca. 30 Minuten evakuiert, um Luftblasenbildung im Kanal zu vermeiden. Dieses hochviskose Präpolymer wird in die Vertiefungen der entsprechenden Aluminiumform gegossen und auf der Heizplatte für mindestens 3 Stunden auf 150°C erwärmt. Dabei findet die Polymerisation statt. Anschließend können die fertigen Kanäle vorsichtig aus der Form entnommen werden.

Als „Boden“ des Versuchssystems dienen Glasplatten mit den Dimensionen 127 x 85 x 1,1mm, die je nach Anwendung vorbereitet werden müssen. Vor der Anzucht von Caco-2 Monolayern werden die Glasplatten mindestens zwei Stunden in Peroxomonoschwefelsäure (Piranha-Lösung) eingelegt und anschließend gründlich zuerst mit Wasser, dann mit 70%igem Alkohol gewaschen. Für die Aussaat von SV-HUC-1 Zellen werden die Glasplatten nur mit 70%igem Alkohol gereinigt.

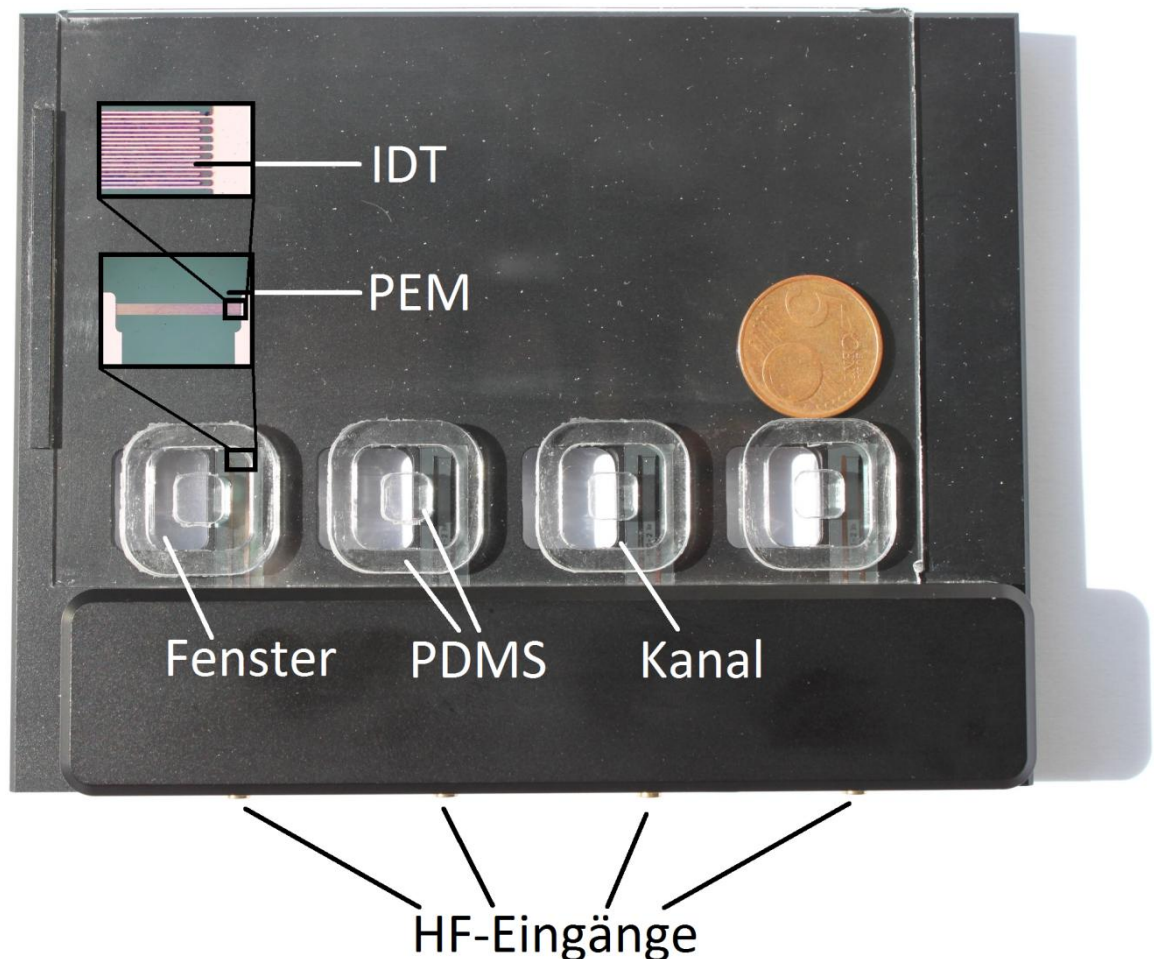
Um die Kanäle auf der vorbereiteten Glasplatte exakt zu positionieren, wird eine Papierschablone mit Klebeband fixiert. Dann werden die Kanäle an der Unterseite mit Präpolymer dünn bepinselt und anhand der Schablone an die exakten Positionen auf der Glasplatte geklebt. Anschließend wird die Glasplatte zur Aushärtung 30 Minuten lang auf 100°C erhitzt. Nach Entfernung der Stegverbindungen an den Kanälen werden die Glasplatten autoklaviert.

Vor Aussaat der Zellen wird jeder Kanal für 30 Minuten mit je 500µl PBS-Puffer vorgequollen. Nach Entfernung des Puffers werden je 500µl Gelatinelösung (1% in Wasser) in den Kanal pipetiert und 30 Minuten bei Raumtemperatur unter keimarmen Bedingungen inkubiert, um die Adhärenz der Zellen zu verbessern. Nach Absaugen der Gelatinelösung werden die Kanäle mit je 500µl der entsprechenden Zellsuspensionen (136.000 Caco-2 Zellen/ml bzw. 816.000 SV-HUC-1 Zellen/ml) beimpft.

Erfahrungsgemäß dauert die Entstehung eines Monolayers eine Woche (Caco-2) bzw. fünf Tage (SV-HUC-1). Es werden Caco-2 Zellen der Passagen 58-85 und SV-HUC-1 der Passagen 40-64 eingesetzt.

### 2.2.3 SAW-Chip

Der SAW-Chip, welcher zur Simulation des dynamischen Flusses im Körper dient, bietet eine nicht-invasive Pumptechnologie, um geringe Probenmengen im 3D-Mikrokanal in Strömung zu versetzen. Das physikalische Prinzip basiert auf akustischen Oberflächenwellen, die sich zweidimensional an der Phasengrenze eines Feststoffs ausbreiten.



**Abbildung 3:** Durch akustische Oberflächenwellen betriebenes Chipsystem. Die Interdigitaltransducer (IDT) bestehen aus ineinandergreifenden Elektroden an einem piezoelektrischen Material (PEM) und werden über die Hochfrequenz-Eingänge (HF-Eingänge) betrieben. In den von Polydimethylsiloxan (PDMS) umgebenen Kanälen werden die Zellen kultiviert und die Versuche durchgeführt. Die Fenster des Chipsystems ermöglichen die Beobachtung der Untersuchungen direkt unter dem Mikroskop.

Ausgelöst wird diese Welle durch Anlegen einer hochfrequenten Wechselspannung an das piezoelektrische Material, die eine Längenänderung bewirkt. Jedes Elektronenpaar des Interdigitaltransducers aus fingerförmig ineinandergreifenden Elektroden verstärkt diese Wellen. Das Anlegen einer Wechselspannung induziert daher rhythmische Verformungen an der Oberfläche des Chips. Dieses genau kontrollierbare „Nanoerdbeben“ erzeugt die akustische Oberflächenwelle.

Ein dünner Wasserfilm überträgt die Schwingung von der Oberfläche des Chips an die Glasplatte des Versuchsmodells und induziert am Ort der Einkopplung in die Probenflüssigkeit einen lokalen Druckgradienten. [3] Dieser bewirkt durch Position und Form des angebrachten 3D-Mikrokanals eine Strömung. Über die Amplitude der

Oberflächenwelle bzw. die Einstellung der Leistung des Hochfrequenzsignals kann die Flussgeschwindigkeit im Chipsystem sehr präzise gesteuert werden. [2]

Das in dieser Diplomarbeit verwendete Chipsystem wird von einem Radiofrequenz-Generator (SMB100A, Rohde&Schwarz GmbH, Österreich) betrieben, an dem ein selbstkühlender Hochleistung-Verstärker (LZY-1, Mini Circuits, Brooklyn, USA) und einen Dämpfer (VAT-3W2+, Mini Circuits, Brooklyn, USA) in Serie geschaltet sind. Das entstandene Hochfrequenz-Signal wird über einen Verteiler (D1572-102, Werlatone, Brewster, USA) auf die vier Interdigitaltransducer anteilmäßig übertragen.

Daher können jeweils vier verschiedene Versuche parallel durchgeführt werden. Die synchrone Durchführung mehrerer Versuche bietet bedeutende Vorteile. So werden äußere Parameter wie tatsächliche Versuchsdauer, Licht- und Temperatureinfluss gleich gehalten, wodurch systematische Fehler reduziert werden. Da zuvor auch die Anzucht der Zellmonolayer parallel erfolgt, sind auch die „zellulären“ Ausgangsbedingungen maximal synchronisiert. Außerdem können durch eine zeitgleiche Versuchsdurchführung verhältnismäßig mehr Untersuchungen durchgeführt werden, wodurch letztendlich die Ergebnisse besser abgesichert sind.

#### 2.2.4 Bestimmung der Flussgeschwindigkeit

Um die tatsächlich im Kanalsystem vorherrschende Flussgeschwindigkeit zu messen, wird das Chipsystem in den Objektisch eines Mikroskops eingebaut. Zur Anwendung kommt dabei eine unpräparierte Glasplatte mit Kanälen ohne Zellen, die je 500µl einer Suspension mit 1µm Partikel enthält. Nach Eingabe der entsprechenden Eingangsleistung wird die tatsächliche Flussgeschwindigkeit in den Kanälen mittels Tracking-Funktion des Programmes Axio Vision Rel 4.8.2 ermittelt.

Eingangsleistung	-17,5dbm	-13,5dbm	-10dbm
Flussgeschwindigkeit	306µm/s	849 µm/s	1911 µm/s
Standardabweichung	58 µm/s	74 µm/s	71 µm/s

**Tabelle 3:** Flussgeschwindigkeiten im Kanal in Abhängigkeit von der Eingangsleistung in Abwesenheit von Zellen.

#### 2.2.5 Versuchsablauf und Inkubationsbedingungen

Aus den Kanälen mit konfluenten Monolayern wurde das Nährmedium abgesaugt und die Kanäle wurden mit je 500µl PBS-Puffer mit Calcium, Magnesium und 0,1% Pluronic<sup>®</sup> F-68 gewaschen. Nach Entfernung des Puffers wurden je 500µl der entsprechenden Partikelsuspensionen eingebracht und sofort die erste Inkubationsphase („=pulse-incubation“) gestartet. Danach wurde pro Kanal zweimal mit je 500µl des oben genannten Puffers gewaschen und die Fluoreszenzintensität des Zellmonolayers im eigens adaptierten Mikrotiterplatten-Fluorimeter (Infinite M200, Tecan, Grödig, Österreich) bei 440/485nm gemessen. Nach der darauffolgenden, zweiten Inkubationsphase („=chase-incubation“) wurde wieder zweimal mit je 500µl der gleichen Pufferlösung gewaschen und wie zuvor beschrieben die Fluoreszenzintensität gemessen. Der gesamte Versuch wurde bei Raumtemperatur und bestmöglichem Lichtschutz durchgeführt. Jeder Versuch wurde mindestens einmal wiederholt.

#### Inkubationsbedingungen - Caco-2 Zellen

Bei der Versuchsreihe mit Caco-2 Zellen wurde für sämtliche Inkubationen ein Zeitraum von jeweils 30 Minuten festgelegt. Es wurden Flussgeschwindigkeiten von 306µm/s, 849µm/s und 1911µm/s gewählt und die Art der Inkubationen wie folgt kombiniert:

Stationäre pulse-incubation - Stationäre chase-incubation

Stationäre pulse-incubation - Chase-incubation unter Flussbedingungen

Pulse-incubation unter Flussbedingungen - Chase-incubation unter Flussbedingungen

#### Inkubationsbedingungen - SV-HUC-1 Zellen

Bei der Versuchsreihe mit SV-HUC-1 Zellen wurde bei einer einzigen Flussgeschwindigkeit von 1911µm/s gearbeitet. Folgende Kombinationen der Inkubations-Modi wurden durchgeführt:

10min pulse-incubation unter Flussbedingungen - 10min chase-incubation unter Flussbedingungen

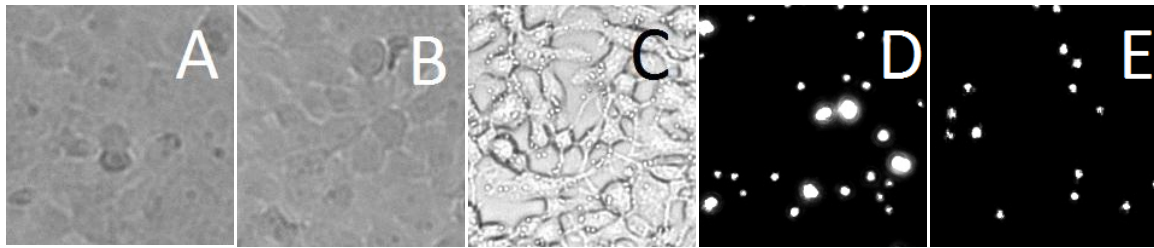
10min stationäre pulse-incubation - 10min chase-incubation unter Flussbedingungen

30min stationäre pulse-incubation - 10min chase-incubation unter Flussbedingungen

### 3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

#### 3.1 Allgemeines

In allen Zellversuchen wird PBS mit Calcium, Magnesium und 0,1% Pluronic<sup>®</sup> F-68 als Medium verwendet, da dieser Puffer für SV-HUC-1 besser geeignet war, während isotoner HEPES-Puffer pH 7,4 zur Ablösung der Zellen führte. (Abb. 4) Beide Puffer waren ohne erkennbare Effekte an den Caco-2 Zellen anwendbar. Der Tensidzusatz war notwendig, um einer Aggregation der oberflächenmodifizierten Mikropartikel während des Versuchsablaufes vorzubeugen.



**Abbildung 4:** SV-HUC-1 Monolayer nach 30min Inkubation mit Nährmedium (A), PBS mit Calcium und Magnesium (B) und mit isotonem HEPES-Puffer pH 7,4 (C) bei 37°C.

WGA-modifizierte (D) und unbehandelte (E) 1µm Partikel in PBS mit Calcium und Magnesium ohne Tensid.

Vor dem Verwenden der Partikelsuspensionen wurden diese stets fluoreszenzmikroskopisch auf Aggregate geprüft und gegebenenfalls - so lange als nötig - im Ultraschallbad dispergiert. Bei weiterhin bestehenden Aggregaten wurde mit einem Ultraschallstab (20% Intensität 2 Sekunden) homogenisiert. Alle Versuche wurden bei Raumtemperatur durchgeführt.

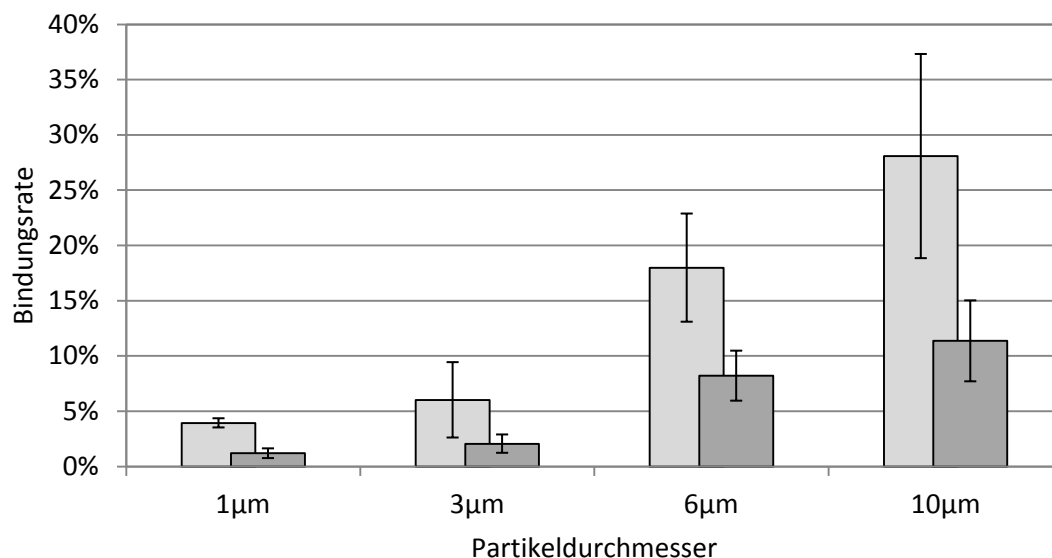
Um unmittelbar nach Zugabe der Partikelsuspension auf den Zellmonolayer mit der entsprechenden Inkubation beginnen zu können, wurde der 100%-Wert (Zahl der zugesetzten Partikel) nicht durch direkte Fluoreszenzintensitäts-Bestimmung im Kanal bestimmt, sondern aus der zuvor ermittelten Konzentration der eingesetzten Partikelsuspension darauf rückgeschlossen. Die in den Abbildungen dargestellten Bindungsraten wurden ermittelt, indem die Fluoreszenzintensitäten der Zellmonolayer während und nach den Versuchen anhand von Kalibrationsgeraden in Partikelanzahlen umgerechnet und prozentuell auf die indirekt bestimmte Zahl an eingesetzten Partikeln bezogen wurden. Die Partikelkonzentration in den Pufferlösungen betrug jeweils 40µg/ml. Da die Ausgangsmasse der eingesetzten Partikel konstant war, bedingen die unterschiedlichen Größen der Partikel, dass sowohl die tatsächliche Gesamt-Oberfläche als auch die Anzahl der eingesetzten Partikel nicht einheitlich sind. Bei einem Unterschied der Durchmesser um den Faktor 10 würde das Verwenden einer gleichen Partikelanzahl jedoch bedeuten, dass die eingesetzten Konzentrationen um den Faktor 1000 verschieden sind, was die Grenzen des eingesetzten Versuchsmodells überschreitet.



## 3.2 Caco-2

### 3.2.1 Einfluss der Partikelgröße auf die Partikel-Zell-Interaktion

Um den Einfluss der Partikelgröße auf die Wechselwirkung zwischen Partikeln und Zellen zu untersuchen, wurden unter gleichen Versuchsbedingungen Testreihen mit Partikeln von 1µm, 3µm, 6µm und 10µm Durchmesser durchgeführt. Die Untersuchungen wurden unter den in Kapitel 2.2.5 angeführten Bedingungen vorgenommen. Zur Veranschaulichung der dabei festgestellten Tendenz wurde exemplarisch die Versuchsreihe mit stationärer pulse-incubation und chase-incubation bei einer Flussgeschwindigkeit von 849µm/s herangezogen.



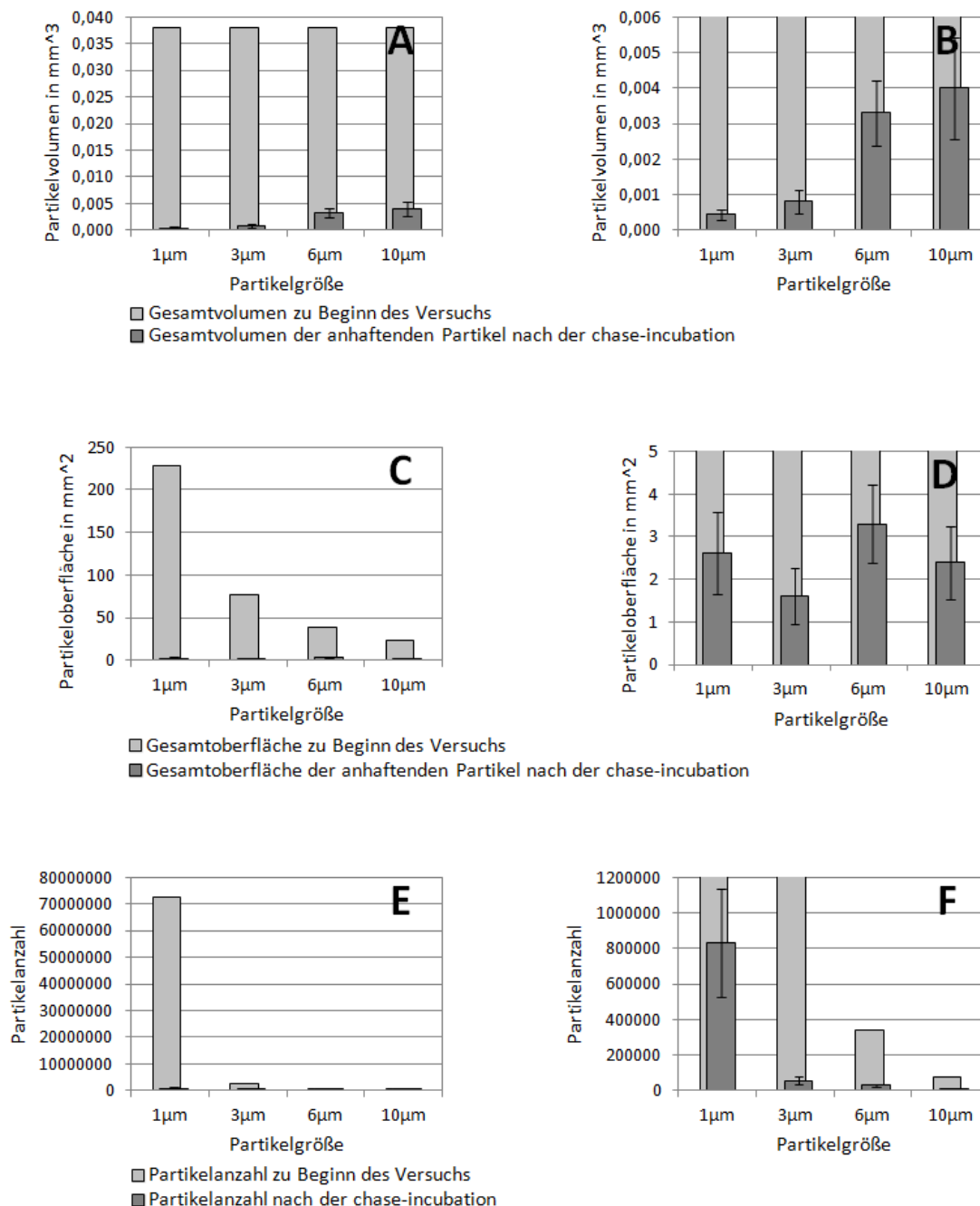
**Abbildung 5:** Caco-2 Bindungsrate von Polystyrol-Partikeln bei stationärer pulse-incubation für 30 Minuten (hellgraue Balken) und chase-incubation unter Flussbedingungen mit 849µm/s für 30 Minuten (dunkelgraue Balken). Es sind die Mittelwerte der Ergebnisse der drei verschiedenen Partikelarten dargestellt.

Wie aus Abbildung 5 ersichtlich ist, nimmt die Partikel-Zell-Interaktion mit steigendem Partikeldurchmesser zu. Dieses Ergebnis wird durch die Literatur bestätigt, wo bei Einsatz von HUVEC-Monolayern auch die Zelladhäsion mit zunehmenden Durchmesser von 1µm - 10µm anstieg. [10] Der Grund dafür liegt in der höheren Sedimentationsgeschwindigkeit von großen Partikeln, die dadurch verhältnismäßig mehr in Kontakt mit dem Zellmonolayern kommen als kleine Partikel, sodass die Bindungswahrscheinlichkeit von großen Partikeln zunimmt.

Diese Tendenz ist bei allen Caco-2 Versuchsreihen der vorliegenden Diplomarbeit wiederzufinden. Als einzige Ausnahme ist die Versuchsreihe mit einer Fluss-Fluss-Inkubation bei 849µm/s zu nennen, wo die Bindungsrate der 3µm Partikel geringer ist als jene der 1µm Partikel.

Ein weiterer interessanter Zusammenhang ergibt sich aus dem Vergleich der Absolut-Werte des Gesamtvolumens, der Gesamtoberfläche und der Partikelanzahl. Wie in Kapitel 3.1 beschrieben, war bei allen Versuchen der vorliegenden Diplomarbeit die eingesetzte Partikel-Masse gleich. Da alle Partikel unabhängig von ihrem Durchmesser

dieselbe Dichte besitzen, liegt zu Versuchsbeginn - unabhängig von der Partikelgröße - ein konstantes Partikelvolumen vor. In der Gesamt-Oberfläche und der Anzahl unterscheiden sich die eingesetzten Partikel jedoch je nach Größe (siehe Abb. 6, A, C und E)



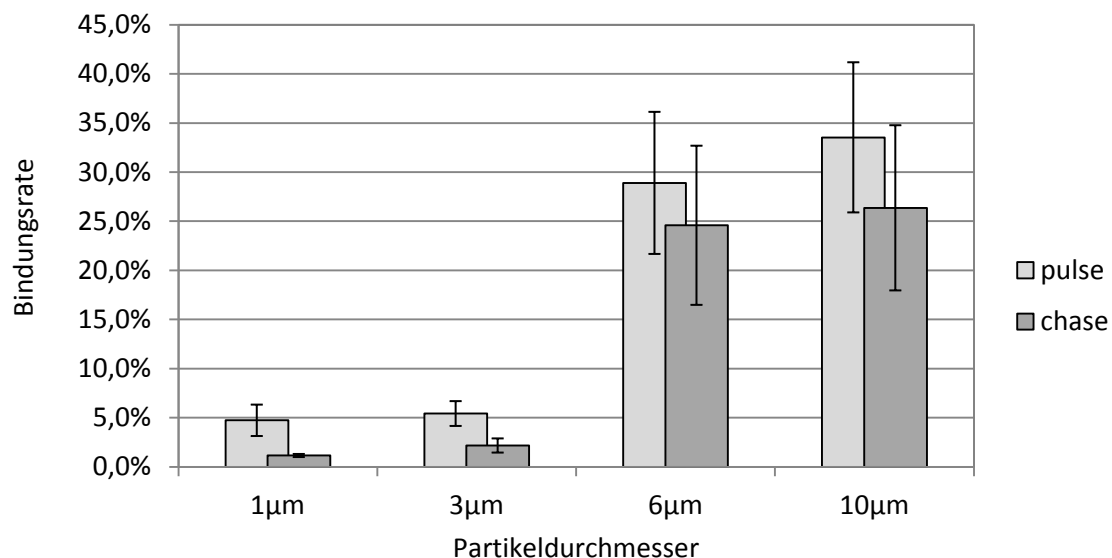
**Abbildung 6:** Caco-2 Bindung von WGA-modifizierten Polystyrol-Partikeln bezogen auf Volumen, Oberfläche oder Zahl nach stationärer Beladung für 30 Minuten und chase-incubation bei einer Flussgeschwindigkeit von 849μm/s für 30 Minuten. Die Daten wurden auf eine Ausgangskonzentration von 40,0μg/ml normiert. Die rechte Spalte (B, D, F) zeigt eine Vergrößerung der Diagramme der linken Spalte (A, C, D) im relativen Bereich.

Da das Ausgangsvolumen bei allen Partikelgrößen konstant ist, zeigt sich bei den Bindungswerten - in Übereinstimmung mit den oben besprochenen Prozent-Werten - eine mit der Partikelgröße zunehmende Zelladhäsion. (siehe Abb. 6, B).

Ein Vergleich der Zahl an gebundenen Partikeln verschiedener Größen (siehe Abbildung 6, F) zeigt, dass um ein Vielfaches mehr  $1\mu\text{m}$  Partikel binden, als  $3\mu\text{m}$ ,  $6\mu\text{m}$  oder  $10\mu\text{m}$  Partikel. Durch die stark unterschiedliche Partikelanzahl zu Beginn des Versuches binden sogar weit mehr  $1\mu\text{m}$  Partikel an den Zellmonolayer als  $6\mu\text{m}$  und  $10\mu\text{m}$  Partikel überhaupt im Fluid enthalten sind.

Jedoch ergibt sich aus dem Vergleich der Gesamtoberfläche der nach der chase-incubation gebundenen Partikel (siehe Abb. 6, D) kein signifikanter Unterschied zwischen den Partikeln mit  $1\mu\text{m}$ ,  $6\mu\text{m}$ , und  $10\mu\text{m}$  Durchmesser. Im Mittel ist Gesamtoberfläche der  $3\mu\text{m}$  Partikel ist nur geringfügig kleiner. Die Oberfläche der an den Monolayer gebundenen Partikel ist demnach unter den Inkubationsbedingungen der in Abbildung 6 vorgestellten Testreihe bei allen Partikeln unabhängig vom Durchmesser gleich. Daher ist das Verhältnis von Bindungsrate zu Partikelgröße nahezu konstant. Bei einer Flussgeschwindigkeit von  $849\mu\text{m/s}$  zeigt sich diese Tendenz sowohl bei stationärer Beladung als auch bei pulse-incubation unter Fluss-Bedingungen.

Ein weiterer Trend ist beispielsweise aus der Testreihe mit Fluss-Fluss-Inkubation bei  $306\mu\text{m/s}$  ableitbar:



**Abbildung 7:** Caco-2 Bindungsrate von Polystyrol-Partikeln in Abhängigkeit von der Partikelgröße. Die pulse-incubation (hellgraue Balken) und die chase-incubation (dunkelgraue Balken) fanden jeweils für 30 Minuten bei einer Flussgeschwindigkeit von  $306\mu\text{m/s}$  statt.

Anhand des oben gezeigten Diagramms wird deutlich, dass die Partikel-Zell-Interaktion nicht kontinuierlich ansteigend verläuft, sondern dass diese zwischen  $3\mu\text{m}$  und  $6\mu\text{m}$  Partikeln sprunghaft ansteigt, während sich einerseits  $1\mu\text{m}$  und  $3\mu\text{m}$  Partikel und andererseits  $6\mu\text{m}$  und  $10\mu\text{m}$  Partikel in ihrer Bindungsrate ähneln. Dieser sprunghafte Anstieg der Bindungsrate wurde bei fast allen Testreihen der vorliegenden Diplomarbeit beobachtet. Bei den Caco-2 Zellversuchen ist er schwächer ausgeprägt als bei jenen mit SV-HUC-1. Bei den Fluss-Fluss-Inkubationen mit  $849\mu\text{m/s}$  und  $1911\mu\text{m/s}$  der Caco-2 Zellversuche war diese Stufe nicht zu beobachten. Um diesen Übergang besser beschreiben zu können, wären weitere Versuche mit mehreren Partikelgrößen zwischen

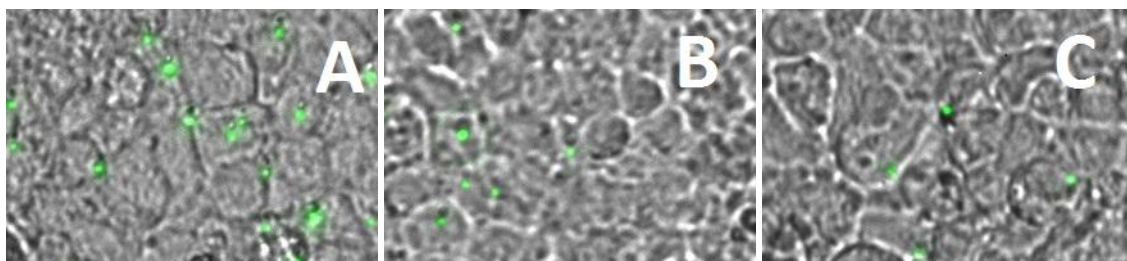
3µm und 6µm Durchmesser notwendig, die das Volumen dieser Arbeit bei weitem überstiegen hätten.

Insbesondere bei der Caco-2 Zelllinie ist zusätzlich zur Partikelgröße auch die Krümmung der Partikeloberfläche erwähnenswert. Caco-2 Zellen verfügen aufgrund ihrer physiologischen Ähnlichkeit zu Dünndarmepithelzellen an der apikalen Zellmembran über einen dichten Besatz von 1µm breiten Mikrovilli, wodurch die Zelloberfläche einerseits stark vergrößert ist und andererseits nur ein geringer Prozentsatz der Zelloberfläche zur Partikelbindung zu Verfügung steht. [11] Die zur Partikelbindung verfügbare Zelloberfläche stellt dabei nur die Enden der Mikrovilli dar und ist daher gewölbt. Inwieweit dadurch die Krümmung der Partikeloberfläche einen weiteren Parameter für die Partikeladhäsion darstellt, kann jedoch aufgrund der vorliegenden Daten nicht geklärt werden.

### 3.2.2 Einfluss der Oberflächenbeschaffenheit auf die Partikel-Zell-Interaktion

Ziel der vorliegenden Diplomarbeit war vorrangig, den Einfluss von Partikelgröße und Flussbedingungen auf die Interaktion zwischen Mikropartikeln und einem Zellmonolayer zu beschreiben. Zusätzlich, um die Interaktion zwischen den Partikeln und den Zellen zu erhöhen, wurde die Partikeloberfläche mit WGA modifiziert, das durch Interaktion mit Zuckerstrukturen an der Zelloberfläche zu einer erhöhten Partikel-Zell-Interaktion führen soll. [4] Daher wurden sämtliche Untersuchungen mit WGA-modifizierten Partikeln, Glycin-modifizierten Partikeln und unbehandelten Partikeln durchgeführt.

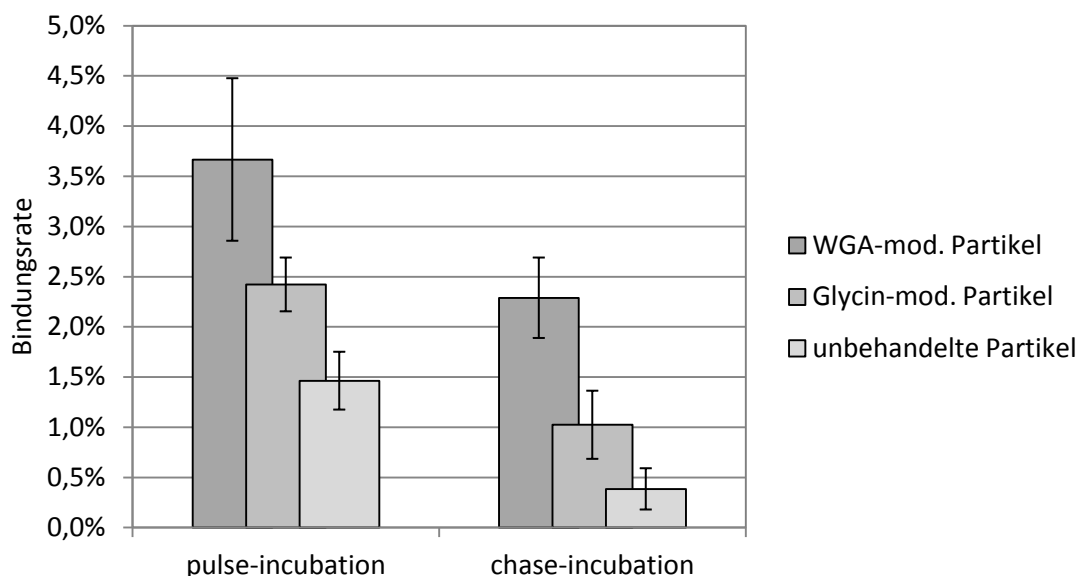
Von den WGA-modifizierten Partikeln wurde eine erhöhte Bindungswahrscheinlichkeit erwartet. Damit mit WGA nicht substituierte, jedoch reaktive Carboxylatgruppen an der Partikeloberfläche die Interaktion nicht beeinflussen, wurde die Partikeloberfläche wie in Kapitel 2.2.1 beschrieben nach der WGA-Kopplung mit Glycin abgesättigt. Um den ausschließlichen Einfluss der Derivatisierungsreaktion zu erfassen, wurden zusätzlich Partikel nur mit Glycin modifiziert. Als weitere Referenz zu den oberflächenmodifizierten Partikeln wurden Untersuchungen mit unbehandelten Partikeln durchgeführt. Bei diesen ist aufgrund ihres anionischen Charakters ebenfalls mit einer geringen Affinität zur Zelloberfläche zu rechnen. [1]



**Abbildung 8:** Caco-2 Monolayer nach Fluss-Fluss-Inkubation mit 849µm/s für je 30 Minuten. Die unterschiedliche Bindungsrate der WGA-modifizierten (A), Glycin-modifizierten (B) und unbehandelten (C) 1µm Polystyrol-Partikel ist deutlich erkennbar.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass im Mittel die Bindungsrate von WGA-modifizierten Partikeln an Caco-2 Zellmonolayer höher war, als jene von Glycin-modifizierten Partikeln. Auch unbehandelte Partikel weisen eine Interaktion mit dem

Monolayer auf, welche jedoch noch geringer ausfällt. Die Standardabweichungen bei den verschiedenen Versuchen variierten jedoch stark und überlappten teilweise. (Abb. 9)

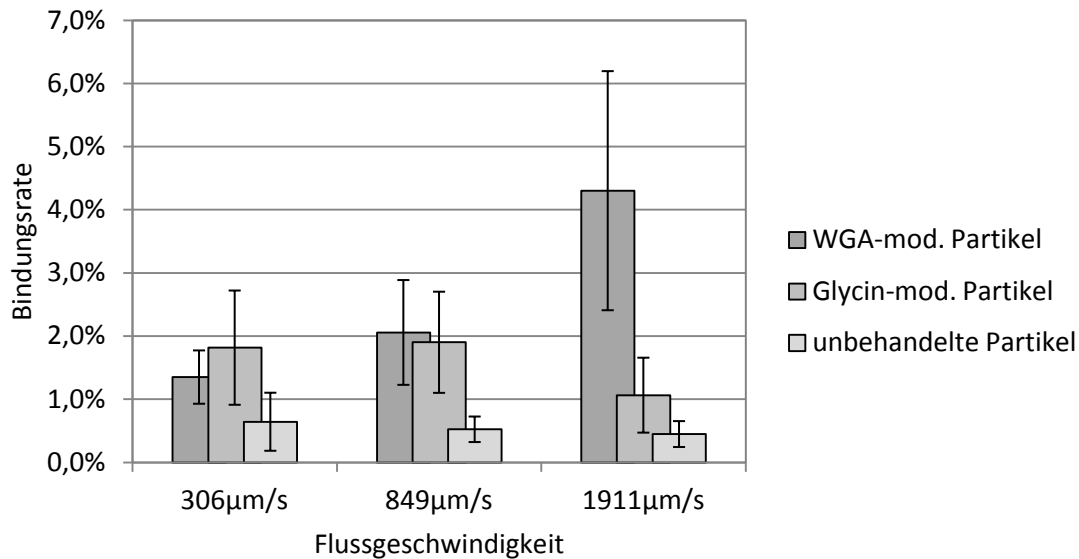


**Abbildung 9:** Einfluss der Oberflächenmodifikation auf die Caco-2 Bindungsrate von 1µm Polystyrol-Partikeln nach stationärer pulse-incubation für 30 Minuten und chase-incubation unter Flussbedingungen mit 1911µm/s für 30 Minuten.

Insbesondere 3µm Partikel zeigen ein inkonsequentes Bindungsverhalten. Wie aus Abbildung 10 ersichtlich ist, stellte die Flussgeschwindigkeit im Chipsystem einen wichtigen Parameter für die Partikel-Zell-Interaktion dar. Bei geringeren Flussgeschwindigkeiten wurde kein statistisch relevanter Unterschied in der Bindungsrate der unterschiedlich oberflächenmodifizierten Partikel beobachtet. Hingegen ist die Zell-Affinität der WGA-modifizierten Partikel bei einer Flussgeschwindigkeit von 1911µm/s signifikant höher, als bei beiden Referenz-Partikeln.

In Abbildung 10 wurde außerdem ein weiterer Effekt des Flusses sichtbar: Mit steigender Flussgeschwindigkeit sinkt die Bindungswahrscheinlichkeit von Glycin-modifizierten Partikeln und unbehandelten Partikeln tendenziell, obwohl kein statistisch signifikanter Unterschied auftritt. Auffällig ist vor allem, dass im Gegensatz dazu die Zelladhäsion von WGA-modifizierten Partikeln mit der Flussgeschwindigkeit steigt.

Das ist möglicherweise dadurch erklärbar, dass die Mikropartikel bei der Fortbewegung über den Zellmonolayer in eine Rollbewegung geraten und daher unterschiedliche Oberflächenbereiche derselben mit dem Zell-Monolayer in Kontakt treten. Insbesondere bei einer inhomogenen Verteilung der bioadhäsiven Liganden auf der Partikeloberfläche kann sich eine derartige Rollbewegung positiv auf die Partikel-Zell-Interaktion auswirken.



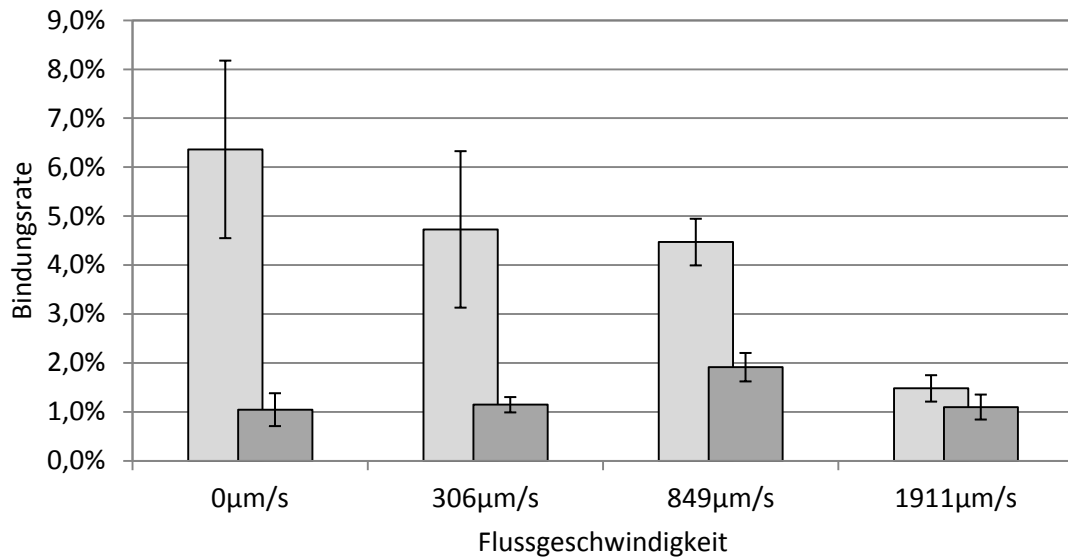
**Abbildung 10:** Caco-2 Bindungsrate von unterschiedlich modifizierten 3 µm Polystyrol-Partikeln nach stationärer pulse incubation für 30 Minuten und chase incubation unter Flussbedingungen für 30 Minuten in Abhängigkeit der Flussgeschwindigkeit.

Daraus ergibt sich die Frage, wie viel WGA durch die kovalente Kopplungsreaktion tatsächlich an die Partikeloberfläche gebunden wird und wie homogen dieser Ligand über die Partikeloberfläche verteilt ist.

### 3.2.3 Einfluss der Flussgeschwindigkeit auf die Partikel-Zell-Interaktion

Um den Einfluss der Flussgeschwindigkeit auf die Partikel-Zell-Interaktion zu beschreiben, wurden Untersuchungen bei Flussgeschwindigkeiten von 0 µm, 306 µm/s, 849 µm/s und 1911 µm/s durchgeführt. Es werden dabei jeweils die Ergebnisse nur jener Untersuchungen ausgewertet, bei denen beide Inkubationen unter den gleichen Bedingungen erfolgten. Insbesondere wird die Diskussion auf die WGA-modifizierten Partikel fokussiert, da Glycin-modifizierte und unbehandelte Partikel in dieser Diplomarbeit vorrangig als Referenz herangezogen werden.

Bei den 1 µm Partikeln ist vor allem während der pulse-incubation ein deutlicher Effekt der Flussgeschwindigkeit sichtbar. Je höher die Flussgeschwindigkeit während der Beladung ist, umso weniger Partikel binden an den Caco-2 Monolayer. Nach der chase-incubation ist dieser Effekt jedoch nicht mehr erkennbar.



**Abbildung 11:** Einfluss der Flussgeschwindigkeit auf die Interaktion zwischen WGA-modifizierten 1µm Polystyrol-Partikeln und dem Caco-2 Monolayer. Die pulse-incubation (hellgraue Balken) und die chase-incubation (dunkelgraue Balken) wurden jeweils unter den gleichen Flussbedingungen für je 30 Minuten durchgeführt.

Folglich sinkt der Anteil der durch die chase-incubation losgerissenen Partikel mit steigender Flussgeschwindigkeit, was in Abbildung 11 als Differenz zwischen den hellen und dunklen Balken erkenntlich ist. Dieses Phänomen beruht möglicherweise darauf, dass jene Partikel, die trotz hoher Flussgeschwindigkeiten mit dem Zellmonolayer interagieren, stärker an die Zellen gebunden sind als bei vergleichsweise niedrigeren Flussgeschwindigkeiten. Dadurch ist es unwahrscheinlicher, dass sie durch die beim Waschen unvermeidlich auftretenden Scherkräfte entfernt werden. Dieses Phänomen tritt tendenziell auch bei allen Versuchen unter Verwendung unterschiedlicher Partikelgrößen auf.

Weiters steigen die Standardabweichungen der Werte mit zunehmender Partikelgröße. Dies dürfte dem Versuchsaufbau und der Detektionsmethode inhärent sein, da bereits geringe lokale Schwankungen in der Anzahl der gebundenen Partikel einen großen Einfluss auf die Fluoreszenzintensität ausüben. Durch das entsprechend höhere Volumen großer Partikel ist mehr Farbstoff pro Partikel vorhanden, was zu stärker schwankenden Fluoreszenzintensitäten führt. Da die vereinzelte Aggregation der Mikropartikel in der Praxis nicht zu verhindern ist, bewirkt die Aggregation großer Partikel demzufolge zu umso höhere Standardabweichungen.

Zusätzlich treten teilweise Schwankungen in den Ergebnissen der Parallelversuche auf, die unabhängig von der Partikelgröße sind. Das kann einerseits auf gering veränderten Versuchsbedingungen beruhen. Da die Kanäle händisch auf die Glasplatten aufgebracht wurden, kam es zu minimalen Unterschieden in der Positionierung. Dies hatte jedoch einen großen Einfluss auf die während des Versuches vorherrschende Flussgeschwindigkeit, wie die Standardabweichungen der Flussgeschwindigkeiten in Tabelle 3 zeigen. Andererseits ist durch die gering unterschiedliche Positionierung der Kanäle auch das Messfeld für die Fluoreszenzintensitäts-Bestimmung innerhalb des

Kanals etwas verschoben. Zusätzlich können die zum Versuch eingesetzten Zellmonolayer sogar bei synchroner Anzucht deutliche Schwankungen in der Qualität aufweisen. Darüberhinaus kann es durch die zahlreichen Waschschrte während des Versuchs zu einer lokalen Ablösung des Monolayers kommen, was zusätzlich zu variierenden Werten beitragen kann. Sobald die Integrität des Caco-2 Monolayers im Messfeld der Fluoreszenzintensitäts-Bestimmung eingeschränkt ist, kann der entsprechende Versuch nicht gewertet werden und muss zu einem späteren Zeitpunkt wiederholt werden, was wiederum zu einem erhöhten systematischen Fehler führt. Des Weiteren kann die Gesamtdauer der Versuche aufgrund der vielen Arbeitsschritte zwischen und nach den Inkubationen variieren.

Mit diesem Hintergrund können die vorliegenden Daten nicht differenziert genug diskutiert werden, um den Einfluss der Flussgeschwindigkeit konkret zu beschreiben. Dafür wären weitere Versuchsreihen vonnöten, die sich besonders auf dieses experimentelle Problem konzentrieren. Idealerweise sollten dabei vier Untersuchungen mit WGA-modifizierten Partikeln einer Größe parallel durchgeführt werden, um die Vorteile des Multikanal-Chipsystems optimal zu nutzen.

#### 3.2.4 Einfluss der Inkubationsbedingungen auf die Partikel-Zell-Interaktion

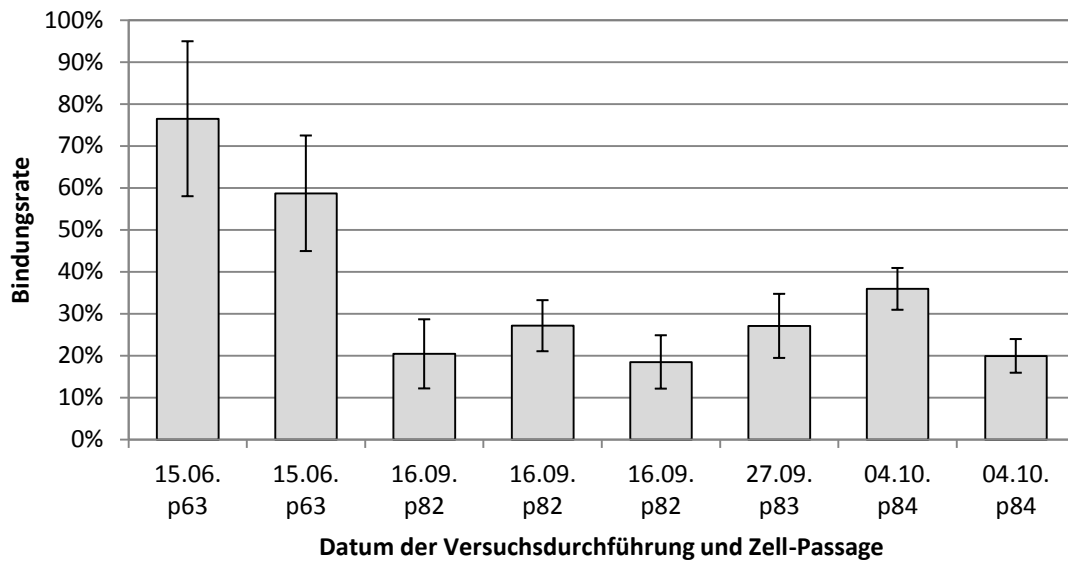
Von Interesse sind in der vorliegenden Diplomarbeit auch die Bedingungen, unter denen die Beladung erfolgt. Um diesen Parameter genauer zu umfassen, wird die pulse-incubation vergleichsweise unter stationären Bedingungen und Flussbedingungen durchgeführt. Die anschließende chase-incubation erfolgt entweder ebenfalls unter stationären Bedingungen, oder unter Flussbedingungen.

Die Beladung mit partikulären Arzneiformen findet im menschlichen Körper meist, aber nicht zwingend unter Flussbedingungen statt. Ist beispielsweise die Blase der Zielort der entsprechenden Arzneiform, so bekommt eine stationäre Beladung des Epithels durchaus Relevanz. Um den Einfluss der Beladung anhand eines Basismodells für die Zellkultur zu untersuchen, wird diese Testreihe an Caco-2 Zellen als artifizielles Dünndarmepithel durchgeführt, um grundlegende Erkenntnisse über das Verhalten mikropartikulärer Arzneiformen nach peroraler Applikation zu erhalten.

Aufgrund der in Kapitel 3.2.3 diskutierten Probleme sind die Standardabweichungen der Ergebnisse jedoch großteils ausgeprägter als die Unterschiede zwischen den Versuchsreihen, wodurch kein signifikantes Resultat zustande kommt. Vorallem das Auftreten von Schwankungen innerhalb der Parallelversuche kommt bei dieser Versuchsreihe sehr deutlich zum Vorschein. Unter allen Versuchsbedingungen werden zwei Parallelversuche durchgeführt. Da zusätzlich zur stationären pulse-chase-incubation noch drei Testreihen mit stationärer Beladung und anschließender pulse-incubation unter Flussbedingungen durchgeführt wurden, sind die Ergebnisse von acht Parallelversuchen zu einer stationären Beladung vorhanden. Diese Versuche wurden über den Zeitraum von fünf Monaten durchgeführt und es wurden dabei Caco-2 Zellen der Passage 63 bis 84 eingesetzt. Sowohl durch das unterschiedliche Zellalter, als auch durch leichte Veränderungen bei der Ausführung der Arbeitsschritte wird ein großer systematischer



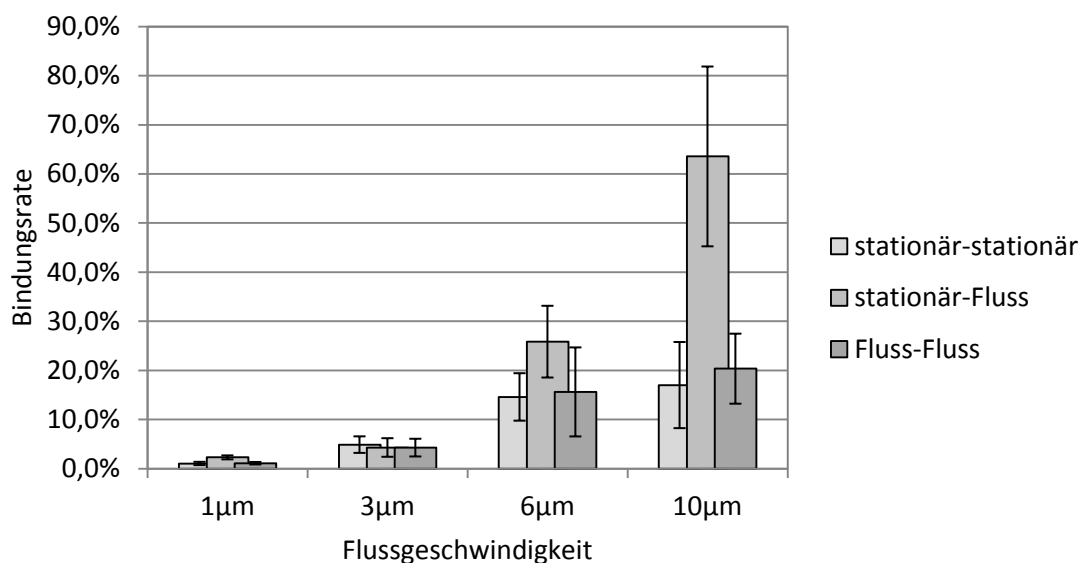
Fehler begünstigt. In Abbildung 12 werden die Ergebnisse der acht Parallelversuche bei stationärer Beladung des Caco-2 Monolayer dargestellt.



**Abbildung 12:** Caco-2 Bindungsrate von WGA-modifizierten 10µm Polystyrol-Partikeln nach stationärer pulse-incubation für 30 Minuten.

Derart unterschiedliche Bindungsraten wirken sich erwartungsgemäß stark auf die Ergebnisse der darauffolgenden chase-incubation aus. Daher sollte von konkreten Aussagen über den Einfluss der Inkubationsbedingungen auf die Partikel-Zell-Interaktion auf Basis der vorliegenden Daten Abstand genommen werden.

Eine generell auftretende Tendenz ist jedoch, dass in Versuchsreihen mit stationärer pulse-incubation und darauffolgender chase-incubation unter Flussbedingungen bei 1911µm/s die Bindungsrate höher ist, als bei den entsprechenden stationären Inkubationen oder Fluss-Fluss-Inkubationen.



**Abbildung 13:** Einfluss der Inkubationsbedingungen auf die Caco-2 Bindungsrate von WGA-modifizierten Polystyrol-Partikeln bei pulse-chase-incubation mit 0µm/s (stationär) bzw. 1911µm/s (Fluss).

Das zeigt sich signifikant bei 1µm- und 10µm Partikeln und auch ausgeprägt als starke Tendenz bei 6µm Partikeln. Bei den Ergebnissen der Versuche mit 3µm Partikeln sind die Standardabweichungen im Verhältnis zu den Mittelwerten sehr hoch. Dadurch kommt den Ergebnissen dieser Versuchsreihen nur eine geringe Bedeutung zu.

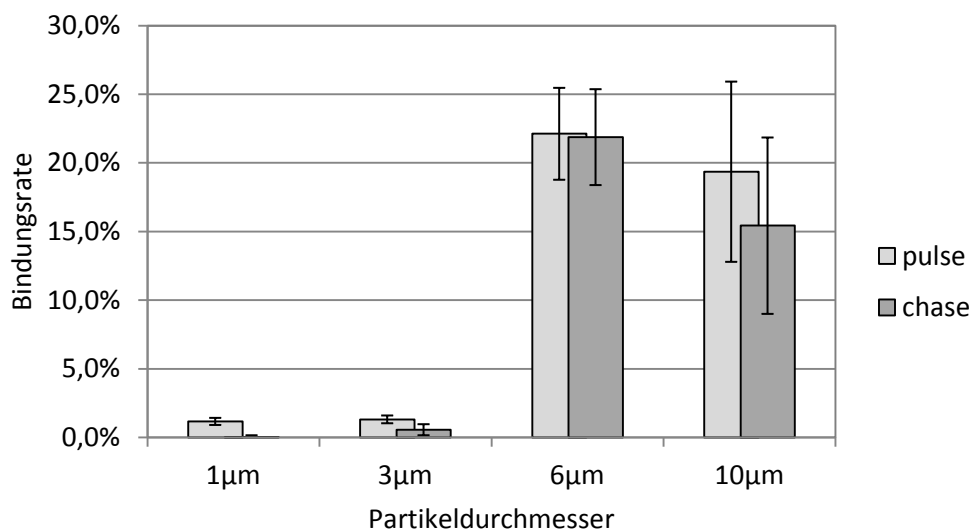
Um den Einfluss der Inkubationsbedingungen gut beschreiben zu können, werden weitere Testreihen zu diesem Thema benötigt. Dabei sollte versucht werden, von maximal einheitlichen Versuchsbedingungen auszugehen. Besonderes Augenmerk sollte dabei auf eine synchrone Anzucht der Zellen und einen schonenden Umgang mit dem Monolayer gelegt werden, weil diese Faktoren insbesondere bei den Caco-2 Zellen zu stark unterschiedlichen Qualitäten des Zell-Monolayers führen.

### 3.3 SV-HUC-1

Der Einfluss von Partikelgröße, Oberflächenbeschaffenheit und Inkubationsbedingungen auf die Partikel-Zell-Interaktion wird auch anhand der Zelllinie SV-HUC-1 als Modell für gesundes Blasenepithel untersucht. Einerseits ist dabei von Interesse, ob die bei Caco-2 Zellen beobachteten Effekte auf eine andere Zelllinie übertragbar sind, andererseits ist die Blase ein potentiell Anwendungsbereich für Mikroarzneiformen. Eine stationäre pulse-incubation und anschließende chase-incubation unter Flussbedingungen kommt den physiologischen Bedingungen am Blasenepithel am nächsten. Um den Effekt der Beladung näher untersuchen zu können, werden Inkubationsbedingungen wie in Kapitel 2.2.5 beschrieben gewählt.

#### 3.3.1 Einfluss der Partikelgröße auf die Partikel-Zell-Interaktion

Bei der Zell-Partikel-Interaktion am SV-HUC-1 Monolayer spielt die Größe der eingesetzten Partikel eine wichtige Rolle. Wie in Abbildung 14 gezeigt wird, binden 6µm und 10µm Partikel stärker an die Zellen als 1µm und 3µm Partikel. Besonders deutlich tritt bei den Versuchen an diesem Zellmodell der schon in Kapitel 3.2.1 beschriebene sprunghafte Anstieg zwischen 3µm- und 6µm Partikeln auf. Auch bei SV-HUC-1 Monolayern wären daher weitere Versuche mit mehreren Partikelgrößen zwischen 3µm und 6µm Durchmesser von Interesse.

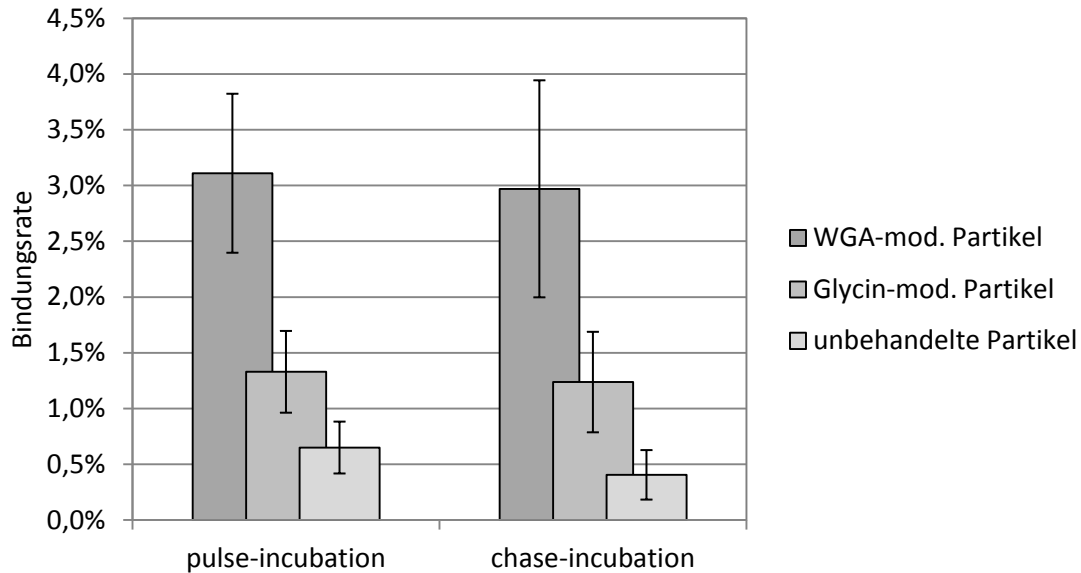


**Abbildung 14:** SV-HUC-1 Bindungsrate von WGA-modifizierten Polystyrol-Partikeln bei stationärer pulse-incubation für 10 Minuten (hellgraue Balken) und 10 minütiger chase-incubation unter Flussbedingungen bei 1911µm/s (dunkelgraue Balken).

Im Gegensatz zu den Untersuchungen am Caco-2 Monolayer (siehe Abb. 7) zeigt sich am Zellmodell SV-HUC-1 noch ein weiterer Trend. Die Bindungsrate von 6µm Partikeln ist bei WGA-modifizierten und Glycin-modifizierten Partikeln tendenziell höher, als die Bindungsrate der entsprechenden 10µm Partikel (siehe Abb. 17). Bei den unbehandelten Partikeln hingegen steigt die Bindungsrate mit der Partikelgröße. Dieser Effekt ist je nach Inkubationsbedingungen unterschiedlich stark ausgeprägt und wird in Kapitel 3.3.3 näher beschrieben.

### 3.3.2 Einfluss der Oberflächenbeschaffenheit auf die Partikel-Zell-Interaktion

Auch beim SV-HUC-1 Monolayer hängt die Zell-Partikel-Interaktion stark von der Oberflächenbeschaffenheit der Mikropartikel ab. Am stärksten binden WGA-modifizierte Partikel an die Zellen. Glycin-modifizierte und unbehandelte Partikel binden schwächer an den Monolayer. Die unbehandelten Partikel mit einem Durchmesser von 1µm, 3µm und 6µm zeigen die schwächste Interaktion aller untersuchten Partikel.



**Abbildung 15:** Einfluss der Oberflächenbeschaffenheit von 1µm Polystyrol-Partikeln auf die SV-HUC-1 Bindungsrate bei stationärer pulse-incubation für 10 Minuten und chase-incubation unter Flussbedingungen bei 1911µm/s für 10 Minuten.

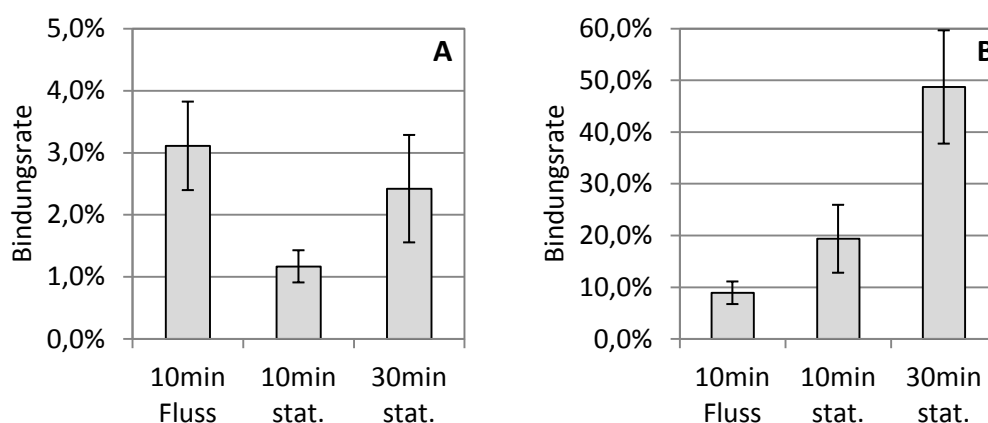
Bei unbehandelten 10µm Partikeln tritt jedoch unter Fluss-Fluss-Bedingungen eine ähnlich starke Partikel-Zell-Interaktion wie bei WGA-modifizierten Partikeln auf. (siehe Abb. 18) Aufgrund der hohen Standardabweichungen ist dies jedoch nur als Tendenz anzusehen. Dennoch wird dieser Aspekt in Kapitel 3.3.3 genauer dargestellt.

### 3.3.3 Einfluss der Inkubationsbedingungen auf die Partikel-Zell-Interaktion

Bei den Bindungsversuchen an SV-HUC-1 Monolayer wurde als besonderer Schwerpunkt die Beladung untersucht. Da die SV-HUC-1 Zelllinie einem gesunden humanen Blasenepithel entstammt, kann sie als Zellmodell für Bindungsvorgänge in der menschlichen Blase verwendet werden. Die Dynamik in der Blase entspricht einer langen stationären Inkubation (=pulse-incubation) mit anschließender kurzen Entleerung unter hohen Flussgeschwindigkeiten (=chase-incubation). Daher wurde die chase-incubation jeweils bei einer Flussgeschwindigkeit von  $1911\mu\text{m/s}$  10 Minuten lang vollzogen. Die pulse-incubation wurde vergleichsweise bei einer Flussgeschwindigkeit von  $1911\mu\text{m/s}$  10 Minuten lang und einer stationären Beladung 10 oder 30 Minuten lang durchgeführt. Dadurch kann der Einfluss des Flusses während der Beladung und der Einfluss der Beladungsdauer auf die Bindungsrate optimal untersucht werden.

Die in Abbildung 16 A dargestellten Ergebnisse zeigen, dass bei  $1\mu\text{m}$  Partikeln die pulse-incubation unter Flussbedingungen zu einer höheren Beladung führt als eine gleichlang dauernde stationäre Inkubation. Das deckt sich sinngemäß mit der Aussage von Kapitel 3.2.2. (Abb. 10), wo  $3\mu\text{m}$  große WGA-modifizierte Partikel mit steigender Flussgeschwindigkeit stärker an den Caco-2 Monolayer binden. Begründet wird das mit einer durch den Fluss entstehenden Rollbewegung, die zu einer erhöhten Bindungswahrscheinlichkeit führen könnte. Um diese Hypothese auf die vorliegenden Daten aus den SV-HUC-1 Versuchsreihen umlegen zu können, wären weitere Untersuchungen bei unterschiedlichen Flussgeschwindigkeiten nötig.

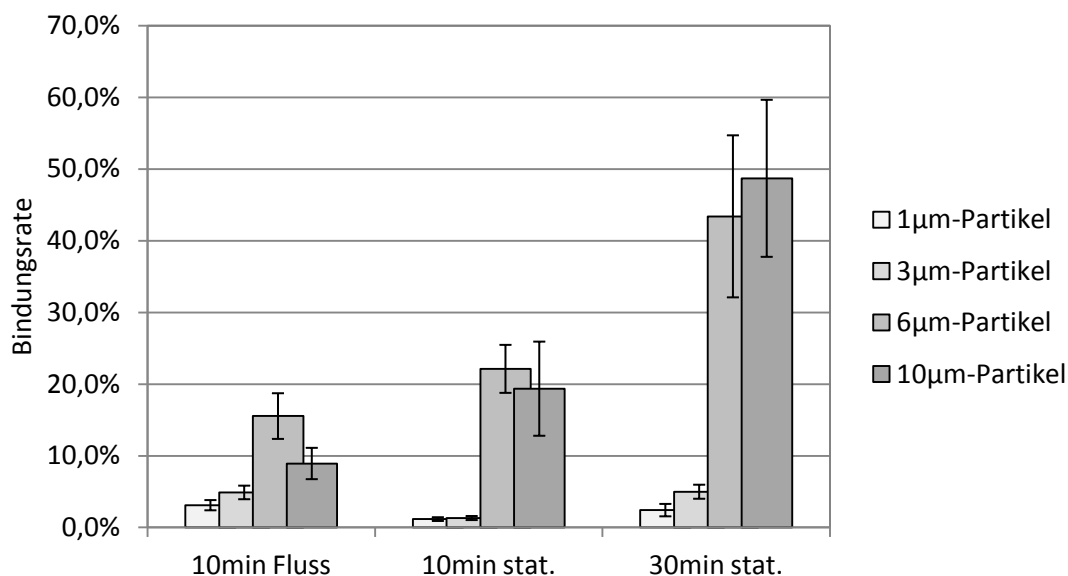
Dieser Effekt tritt jedoch nur bei den  $1\mu\text{m}$  und  $3\mu\text{m}$  Partikeln auf, bei größerem Durchmesser der Mikropartikel ( $6\mu\text{m}$  und  $10\mu\text{m}$ ) binden bei Beladung unter Flussbedingungen weniger Partikel an den SV-HUC-1 Monolayer als unter stationären Bedingungen (siehe Abb. 16 B). Da hier die Bindungsrate um ein Vielfaches höher als bei  $1\mu\text{m}$  und  $3\mu\text{m}$  Partikeln ist, tritt der positive Effekt dieser Rollbewegung möglicherweise in den Hintergrund. Dass bei größeren Partikeln die Bindungsrate unter Flussbedingungen niedriger ist als unter stationären Bedingungen, ist auf den mit der Partikelgröße zunehmenden Strömungswiderstand gebundener Partikel im Fluid zurückzuführen.



**Abbildung 16:** Bindungsrate von  $1\mu\text{m}$  WGA-modifizierten Polystyrol-Partikeln (A) und  $10\mu\text{m}$  WGA-modifizierten Polystyrol-Partikeln (B) an SV-HUC-1 Monolayern nach pulse-incubation bei Flussbedingungen mit  $0\mu\text{m/s}$  (stat.) bzw.  $1911\mu\text{m/s}$  (Fluss).

Darüber hinaus ist auch die Dauer der stationären Inkubation ein wesentlicher Parameter für die Bindungsrate. Eine Verlängerung der stationären Beladung von 10 auf 30 Minuten erhöht die Bindungsrate signifikant bei allen untersuchten Partikelgrößen. Da die Sedimentationsgeschwindigkeit mit der Partikelgröße zunimmt, bewirkt eine längere Inkubationsdauer insbesondere bei größeren Partikeln eine verstärkte Sedimentation. Abbildung 16 B zeigt die durch die Verlängerung der pulse-incubation deutlich erhöhte Bindungsrate der 10µm Partikel.

Wie in bereits in Kapitel 3.3.1 erwähnt ist auch der Einfluss der Partikelgröße auf die Bindungsrate von den Bedingungen abhängig, unter denen die pulse-incubation durchgeführt wird. Abbildung 17 zeigt diese Abhängigkeit, indem der Einfluss der Partikelgröße bei den unterschiedlichen pulse-incubations dargestellt wird.



**Abbildung 17:** SV-HUC-1 Bindungsrate von WGA-modifizierten Polystyrol-Partikeln nach pulse-incubation bei Flussbedingungen mit 0µm/s (stat.) bzw. 1911µm/s (Fluss).

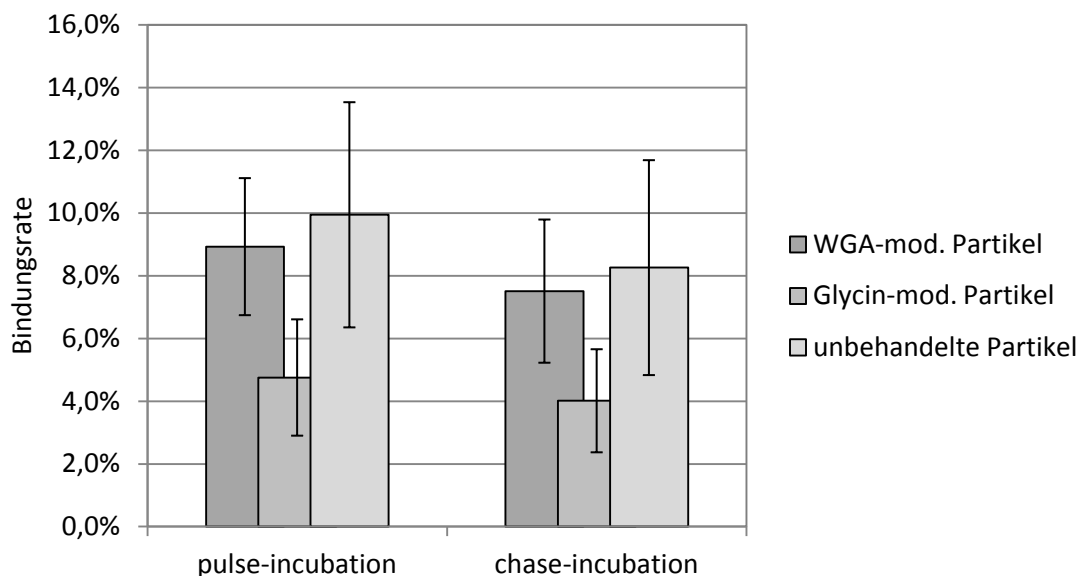
Im Bereich von 1µm bis 6µm Durchmesser nimmt die Bindungsrate mit der Partikelgröße zu. Bei stationärer Beladung besteht kein statistisch relevanter Unterschied zwischen den Bindungsraten von 6µm- und 10µm Partikeln. Bei 30 Minuten pulse-incubation binden jedoch die 10µm Partikel am stärksten. Diese Beobachtung deckt sich mit den Ergebnissen am Caco-2 Zellmodell, wo ebenfalls eine 30 minütige Beladung durchgeführt wurde. Bei 10 Minuten pulse-incubation unter Flussbedingungen ist die Zell-Partikel-Interaktion der 6µm Partikel signifikant höher, als die der anderen Partikelgrößen. Dieser Effekt tritt bei den WGA-modifizierten Partikeln, wie in Abbildung 17 dargestellt, auf. Interessanter Weise zeigen Glycin-modifizierte Partikel die gleiche Tendenz, während unmodifizierte Partikel unter allen Inkubationsbedingungen mit zunehmendem Partikeldurchmesser eine steigende Zelladhäsion aufweisen.

Die Zell-Partikel-Interaktion wird mit zunehmender Partikelgröße durch deren höhere Sedimentationsgeschwindigkeit begünstigt. In diesen Experimenten ist die Sedimentation unabhängig von der Flussgeschwindigkeit. Flussbedingungen lösen die in Kapitel 3.2.2 beschriebene Rollbewegung aus und begünstigen so den Kontakt des bioadhäsiven Liganden mit der Glycokalix der Zellen, was sich positiv auf die Interaktion auswirkt.

Durch den Fluss im Kanal tritt jedoch auch ein Strömungswiderstand an den gebundenen Partikeln auf. Wenn die Zelladhäsion der Partikel stärker als der Strömungswiderstand ist, bleiben die Partikel an die Zellen gebunden. Wenn die Adhäsionskraft schwächer als der am Partikel auftretende Strömungswiderstand ausfällt, wird das Partikel abgelöst. Da der Strömungswiderstand mit dem Partikeldurchmesser zunimmt, ist insbesondere bei größeren Partikeln die Stärke der Zell-Adhäsion entscheidend für das Zustandekommen einer Bindung.

Die Oberfläche der unbehandelten Partikel weist keine biorekognitive Eigenschaften auf, verursacht aber aufgrund ihrer negativen Ladung unspezifische Wechselwirkungen mit dem Zellmonolayer. Diese Art der Partikel-Zell-Interaktion ist jedoch weitaus schwächer, als die Bioadhäsion von WGA-modifizierten Partikeln. [1]

Demzufolge wäre insbesondere bei nicht modifizierten 10µm Partikeln eine geringere Bindungsrate zu erwarten. Abbildung 18 zeigt, dass deren Bindungsrate jedoch sogar der Bindungsrate von WGA-modifizierten Partikeln entspricht. Diese Unregelmäßigkeit in der Bindungsrate unmodifizierter Partikel konnte bei 10µm Partikeln und der SV-HUC-1 Zelllinie beobachtet werden.



**Abbildung 18:** Einfluss der Oberflächenbeschaffenheit von 10µm Polystyrol-Partikeln auf die SV-HUC-1 Bindungsrate. Es sind die Ergebnisse der Fluss-Fluss-Inkubationen für 10 Minuten bei 1911µm/s dargestellt.

Eine stichhaltige Erklärung dafür kann aufgrund der vorliegenden Daten nicht gegeben werden. Da die Partikel für die Zellversuche dieser Diplomarbeit nicht selbst hergestellt wurden, ist über sie nur bekannt, was der Hersteller an Informationen weitergibt. Demzufolge handelt es sich um Polystyrol-Partikel mit carboxylierter Oberfläche. Ob daneben weitere chemische Gruppen an der Partikeloberfläche vorliegen, die möglicherweise die Zell-Interaktion beeinflussen, ist nicht bekannt.

### **3.4 Zusammenfassende Diskussion und Ausblick**

In der vorliegenden Diplomarbeit sollte der Einfluss der Partikelgröße auf das Interaktionsverhalten mit Zellen unter dynamischen Bedingungen untersucht werden. Die Versuche ergaben, dass größere Partikel sowohl bei Caco-2 als auch bei SV-HUC-1 Zellen stärker an den Zellmonolayer binden. Bei beiden Zelllinien zeigte sich darüber hinaus ein Knick in der Bindungskurve zwischen 3µm- und 6µm Partikeln. Insbesondere bei SV-HUC-1 Zellen war diese Stufe stark ausgeprägt. Außerdem binden bei diesem Zellmodell bei einer pulse-incubation von 10 Minuten unter Flussbedingungen WGA-modifizierte und Glycin-modifizierte 6µm Partikel signifikant stärker an den SV-HUC-1 Monolayer als die entsprechenden 10µm Partikel. Bei Caco-2 Zellen konnte dieses Phänomen nicht beobachtet werden, wobei allerdings die Inkubationsdauer zur SV-HUC-1 Testreihe unterschiedlich war. Eine allgemeine Tendenz über alle Versuchsreihen ist die Zunahme der Standardabweichung mit der Partikelgröße.

Außerdem wurde der Einfluss der Oberflächenbeschaffenheit auf die Partikel-Zell-Interaktion untersucht. Neben wenigen Ausnahmen, die aufgrund der vorliegenden Daten nicht stichhaltig erklärbar sind, ist das generelle Ergebnis dieser Fragestellung, dass WGA-modifizierte Partikel eine höhere Bindungsrate als Glycin-modifizierte Partikel aufweisen und unbehandelte Partikel am schwächsten an den Zellmonolayer binden.

Um die Auswirkungen der verschiedenen Flussgeschwindigkeiten konkret beschreiben zu können, sind die vorliegenden Daten nicht ausreichend. Es wurde jedoch festgestellt, dass das Anlegen eines Flusses unter bestimmten Bedingungen einen positiven Effekt auf die Bindungsrate ausübt.

Weiters konnte bei den Caco-2 Zellversuchen beobachtet werden, dass mit steigender Flussgeschwindigkeit der Anteil der durch die chase-incubation losgerissenen Partikel sinkt. Bei den SV-HUC-1 Zellen wurde nur eine Flussgeschwindigkeit untersucht. Vergleichsweise ist der oben beschriebene Anteil an abgelösten Partikeln bei SV-HUC-1 Zellen geringer als bei Caco-2 Zellen. Das ist möglicherweise auch auf die kürzeren Inkubationszeiten zurückzuführen. Aus SV-HUC-1 Versuchen ist weiters erkennbar, dass sich eine Verlängerung der Beladungszeit auf die Bindungsrate positiv auswirkt.

Durch die komplexe Vorbereitung und Durchführung der Zellversuche dieser Diplomarbeit traten einige Schwierigkeiten auf, die das Zustandekommen der Ergebnisse möglicherweise mit beeinflussten:

Für die Kultivierung der Zell-Monolayer in den Kanälen wurden die Glasplatten in einer Kunststoffbox aufbewahrt. Um den Gasaustausch im Brutschrank zu ermöglichen war an der Oberseite dieser Box ein ca. 2mm breiter Spalt vorhanden, wodurch wiederholt Pilzinfektionen auftraten und infolge dessen neue Monolayer kultiviert werden mussten.

Insbesondere Caco-2 Monolayer waren bei der Kultivierung und während des Versuches möglichst schonend zu behandeln, da ansonsten eine lokale bis großflächige Ablösung des Monolayers drohte. Insbesondere an den drei Längsstreifen des quadratischen Kanals, an denen die Fluoreszenzintensitäts-Messungen durchgeführt wurden, war dies möglichst



zu verhindern. Daher wurden sämtliche Waschschritte während der Kultivierung und des Versuchs an jenem Längsstreifen des Kanals durchgeführt, wo die akustische Oberflächenwelle in die Probenflüssigkeit einkoppelt. Dieser Längsstreifen wurde nicht zur Fluoreszenzintensitäts-Messung herangezogen.

Auch beim Umgang mit dem SV-HUC-1 Monolayer wurde so verfahren, wenngleich dieser wesentlich unempfindlicher gegenüber den beim Waschen auftretenden Scherkräften war. Es waren bei dieser Zelllinie zu keinem Zeitpunkt Veränderungen des Monolayers durch mechanische Belastungen mikroskopisch sichtbar.

Unabhängig von der Qualität und mechanischen Belastbarkeit des Monolayers übt, wie in Kapitel 3.2.4 diskutiert, offensichtlich auch das Zellalter einen Einfluss auf die Bindungsrate aus. Durch das Verwenden von Zellen mit stark unterschiedlichen Passagenzahlen wird die Streuung der Ergebnisse, die bei biologischen Testsystemen ohnehin ein Problem darstellt, zusätzlich verstärkt.

Ein weiterer Aspekt, der zu den teilweise hohen Standardabweichungen der Ergebnisse beitrug, war die nicht vollkommen zu verhindernde Partikelaggregation. Auch wenn, wie in Kapitel 3.1 beschrieben, großer Wert auf das homogene Resuspendieren der Mikropartikel gelegt wurde, konnte das vereinzelte Auftreten von Aggregaten nicht verhindert werden.

Unabhängig von den Schwierigkeiten der Zellversuche selbst, zeigt sich bei der Auswertung ein weiteres Problem: Insbesondere nach der chase-incubation waren die Fluoreszenzintensitäts-Messwerte der Zellversuche mit  $1\mu\text{m}$  Partikeln häufig so gering, dass der große Achsenabschnitt der Kalibrationsgerade (siehe Kapitel 8.1.1, Kalibrationsgerade für die Kanäle des Chipsystems) die resultierenden Ergebnisse bei der Umrechnung in die Partikelzahlen verzerrte.

Ein weiteres Problem in der praktischen Durchführung der SV-HUC-1 Zellversuche war die kurze Inkubationsdauer von 10 Minuten. Da zwischen und nach den Inkubationen mehrere Waschschritte und Messungen durchgeführt werden mussten, welche insgesamt mindestens 5 Minuten benötigten, beeinflusste die Dauer dieser Arbeitsschritte die Gesamt-Versuchs-Dauer maßgeblich.

Neben den konkreten Ergebnissen dieser Diplomarbeit traten auch einige Fragestellungen und Widersprüchlichkeiten auf, die weitere Untersuchungen zu diesem Thema notwendig machen. Insbesondere die Auswirkungen der verschiedenen Flussgeschwindigkeiten konnten aufgrund der vorliegenden Daten nicht ausreichend beschrieben werden. Damit die Vorteile des Multikanal-Systems bei weiteren Versuchsreihen optimal umgesetzt werden können, wäre die konkrete Fragestellung der Testreihe im Voraus zu definieren und dem entsprechend die Versuchsanordnung zu planen.

Um die oben beschriebene Stufe in der Bildungsrate der Mikropartikel unterschiedlicher Größe konkreter beschreiben zu können, wären darüberhinaus Zellversuche mit Mikropartikeln eines Durchmessers zwischen  $3\mu\text{m}$  und  $6\mu\text{m}$  notwendig.

## 4 ZUSAMMENFASSUNG

Nano- und Mikropartikel gewinnen als Trägersysteme für Arzneistoffe zunehmend an Bedeutung. Die Wirkstoffe sind im Inneren der Partikel vor instabilisierenden Umgebungsbedingungen, Metabolisierung und Elimination geschützt und die Freisetzung kann durch eine entsprechende Galenik gesteuert werden. Durch eine Modifikation der Partikeloberfläche kann zusätzlich die Partikel-Zell-Interaktion beeinflusst werden, wodurch eine spezifische Anreicherung im kranken Gewebe möglich wird. Dadurch kann die Dosis und die Nebenwirkungsrate reduziert werden.

Sowohl für die Herstellung und Verarbeitung, als auch für die Resorption, Distribution und Interaktion im menschlichen Körper ist die Größe der eingesetzten Partikel ein wichtiges Kriterium. Da die Dynamik im menschlichen Körper die Verteilung und Anreicherung der Mikropartikel wesentlich mit-beeinflusst, ist es wichtig, auch diesen Parameter in den Versuchsaufbau zu integrieren. Um die Fluidik im Körper zu simulieren, wurden mehrere Versuchsmodelle entwickelt. Für die Zellversuche in dieser Diplomarbeit wurde ein Surface-Acoustic-Wave-Chip (SAW-Chip) verwendet, der sich durch eine nicht invasive Pumptechnik auszeichnet. Durch Anlegen einer Wechsellspannung an einen Transducer wird ein „Nanoerdbeben“ erzeugt, das akustische Oberflächenwellen induziert. Diese greifen über einen dünnen Flüssigkeitsfilm auf das Chiplabor über und versetzen die Probenflüssigkeit in eine Strömung, deren Flussgeschwindigkeit sehr präzise gesteuert werden kann. Bei dem verwendeten Multikanal-System können vier Untersuchungen parallel durchgeführt werden.

Das Ziel der vorliegenden Diplomarbeit war, den Einfluss der Partikelgröße auf die Bindungsrate an Zellmonolayer zu untersuchen. Als Versuchsmodelle wurden die humanen Zelllinien Caco-2 als artifizielles Dünndarmepithel und SV-HUC-1 als artifizielles Blasenepithel verwendet und Testreihen mit Mikropartikeln von 1µm, 3µm, 6µm und 10µm Durchmesser durchgeführt. Die eingesetzten Mikropartikel hatten eine carboxylierte Oberfläche, welche zu Vergleichszwecken auch mit Glycin oder Weizenlektin (WGA) modifiziert wurde. Um die Dynamik im Körper in den Versuchsaufbau mit einzubeziehen, wurde bei unterschiedlichen Flussgeschwindigkeiten im Chiplabor gearbeitet.

Bei der Caco-2 Zelllinie zeigte sich, dass die Bindungsrate mit der Partikelgröße zunimmt, während bei den SV-HUC-1 unter bestimmten Bedingungen die Zellaffinität der 6µm Partikel am höchsten war. Bei beiden Zelllinien war zwischen der Bindungsrate der 3µm und der 6µm Partikel ein sprunghafter Anstieg erkennbar. Dass eine Oberflächenmodifikation mit Glycin eine leichte Verbesserung der Bindungsrate und eine Modifikation mit WGA eine deutliche Steigerung der Partikel-Zell-Interaktion bewirkt, galt ebenfalls für beide untersuchten Zelllinien.

Bei den Caco-2 Zellversuchen konnte weiters beobachtet werden, dass mit steigender Flussgeschwindigkeit der Anteil der durch die chase-incubation losgerissenen Partikel sinkt. Der Anteil an abgelösten Partikeln ist bei SV-HUC-1 Zellen geringer als bei Caco-2

Zellen, was möglicherweise auf die kürzeren Inkubationszeiten zurückzuführen ist. Weiters nimmt die Partikel-Bindungsrate mit Verlängerung der Beladungszeit bei SV-HUC-1 Monolayern zu.

Die Ergebnisse dieser Diplomarbeit zeigen, dass Flussbedingungen die Partikel-Bindungsrate mit-beeinflussen. Unter diesem Aspekt wird deutlich, wie wichtig in-vitro Zellversuche unter dynamischen Bedingungen sind. Für den therapeutischen Einsatz von Mikropartikeln sind insbesondere die Ergebnisse bezüglich Partikelgröße von Relevanz. Die Erkenntnis anhand der SV-HUC-1 Zellversuche, dass Flussbedingungen den Einfluss der Partikelgröße auf die Bindungsrate verändern können, ist von besonderem Interesse. Durch weitere Forschung an diesem Aspekt können für die verschiedenen Einsatzgebiete im menschlichen Körper die optimalen Partikelgrößen ermittelt werden. Dadurch kann der therapeutische Einsatz von Mikropartikeln in der Humanmedizin positiv beeinflusst werden.

## 5 **ABSTRACT**

Nowadays, nano- and microparticles are gaining increasing importance in drug delivery since the active pharmaceutical ingredients inside the particles are protected from degradation by harmful environment and metabolism. Additionally, the manufacturing process can be modified accordingly to control the release pattern of the drug incorporated. Furthermore, the cell-particle-interaction can be influenced by modifying the particles' surface. Thus, it is possible to accumulate these particles in the desired tissue. Altogether these characteristics can result in reduction of dosage and side effects.

The size of the particles strongly influences the absorption, distribution and interaction inside the human body. Another issue still to be investigated is the hydrodynamic flow in the GI-tract and the vasculature affecting the behaviour of the particles in the human body. To include this parameter in the experimental set-up as well, different test models have been developed to simulate the fluidics. For the experiments in this diploma thesis a surface acoustic wave chip was used. This model differs from others because of its non-invasive pump technology. Upon applying alternating voltage, a transducer causes a kind of a „nano earthquake“ that induces surface acoustic waves which are spread to the chip via a thin film of water consequently causing a circulating and precisely controllable flow in the test model. For this diploma thesis a multi channel chip was used enabling four experiments in parallel.

The key aspect of this project was to investigate the influence of particle size on cell adhesion. For that purpose, fluorescent polystyrene particles of 1µm, 3µm, 6µm and 10µm in diameter were used. The test models applied were monolayers of the human cell lines Caco-2 mimicking small intestinal epithelium and SV-HUC-1 as an artificial bladder epithelium. Particles decorated with wheat germ agglutinin (WGA) at the surface were compared with glycine-modified particles and untreated particles to assess the influence of the particle surface on the binding rate. To simulate the dynamics inside the human body, the experiments were performed under different flow conditions.

The experiments with Caco-2 monolayers revealed increasing cell adhesion along with an increasing particle size. The results of SV-HUC-1 test series differed to some extent. Under special conditions the cell-binding of 6µm particles exceeded that of 10µm particles. Both cell lines showed sudden increase in the cell-binding rate between 3µm and 6µm particles. In contrast, the influence of surface modification of particles was equivalent for both cell lines. The cell adhesion of WGA-modified particles exceeded that of glycine-modified particles while the binding rate of untreated particles was lowest.

The Caco-2 test series additionally disclosed the influence of flow velocity on the binding rate. The percentage of detached particles decreased with increasing hydrodynamic flow during chase-incubation being lower in case of SV-HUC-1 as compared to Caco-2 probably due to shorter incubation period. Furthermore, a prolonged pulse incubation caused an increased binding rate of particles as observed in the SV-HUC-1 test series.

All in all, the results of this diploma thesis demonstrate that flow conditions considerably affect the cell-binding rate of microspheres. Out of this reason this issue has to be mimicked by an in-vitro test system to further approach the in-vivo situation. The particle size is also relevant for the therapeutic utility of microparticles. Vice versa, as clearly confirmed by SV-HUC-1 test series, the influence of the particle size on the binding rate is modified by flow conditions. Therefore, further research is inevitably necessary to elucidate the optimal particle size for different application needs in humans for further improvement of the therapeutic value of microparticles in human medicine.

## **6 LITERATURVERZEICHNIS**

- [1] C. Pichl, Diplomarbeit, Universität Wien, 2011
- [2] T. Franke, A. Wixforth, Physik in unserer Zeit, 2007, 38, 88-94
- [3] M. F. Schneider, S. W. Schneider, Biospectrum, 2008, 2, 134-139
- [4] F. Gabor, M. Stangl, M. Wirth, Journal of Controlled Release, 1998, 55, 131–142
- [5] V. E. Plattner , F. Gabor , G. Borchard , M. Wirth, Sci Pharm., 2009, 77, 190
- [6] B.-Y. Kim, J. H. Jeong, K. Park, J.-D. Kim, Journal of Controlled Release, 2005, 102, 525–538
- [7] I. Ivošević, Diplomarbeit, Universität Wien, 2009
- [8] U. Länger, Diplomarbeit, Universität Wien, 2009
- [9] G. T. Hermanson: Bioconjugate Techniques. Academic Press, San Diego, 1996
- [10] P. Charoenphol, R. B. Huang, O. Eniola-Adefeso, Biomaterials, 2010, 31, 1392–1402
- [11] M. Möhring, Dissertation, Universität Leipzig, 2003

## 7 LEBENS LAUF

### Angaben zur Person

---

Geburtsdatum	08.12.1986 in Wien
Staatsangehörigkeit	Österreich

### Schul- und Berufsbildung

---

<u>Seit Oktober 2006</u>	Studium der Pharmazie an der Universität Wien
28. September 2007	Erster Studienabschnitt abgeschlossen
28. Februar 2011	Zweiter Studienabschnitt abgeschlossen

<u>Sept. 2001-Juni 2006</u>	Höhere Bundes-, Lehr- und Versuchsanstalt für chemische Industrie
Spezialisierung	Biochemie, Bio- und Gentechnologie
Qualifikation	Reife- und Diplomprüfung (Matura)

<u>Sept. 1997-Juni 2001</u>	Bundesrealgymnasium, Wien
-----------------------------	---------------------------

<u>Sept. 1993-Juni 1997</u>	Volksschule, Wien
-----------------------------	-------------------

### Berufstätigkeiten

---

<u>Seit März 2011</u>	Tutorium an der Fakultät für Lebenswissenschaften der Universität Wien
-----------------------	--

<u>Juli 2009 bis Februar 2011</u>	Anstellung bei der Adler-Apotheke, 1150 Wien
-----------------------------------	--

<u>August 2005</u>	Praktikum bei Gulildhay LTD, Guildford, UK
--------------------	--

<u>Juli 2005</u>	Praktikum beim Department of Pharmacy, King's College London, UK
------------------	--

<u>August 2003</u>	Praktikum beim Laboratorium für Umweltanalytik GmbH, 1180 Wien
--------------------	--

Stand: Jänner 2012

## 8 ANHANG

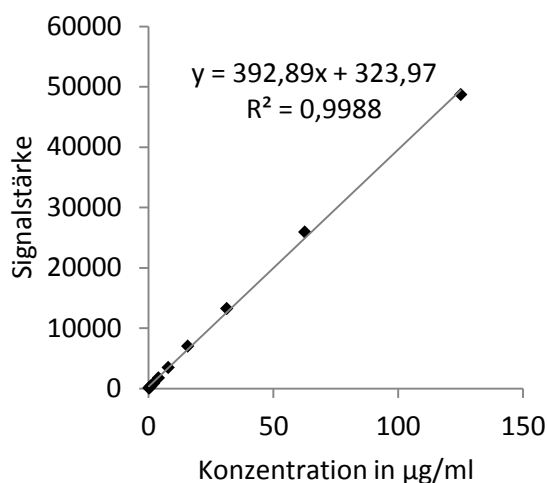
### 8.1 Kalibrationsgeraden

Die Fluoreszenzintensität wurde im Mikrotiterplatten-Fluorimeter (Infinite M200, Tecan, Grödig, Österreich) bei 440/485 nm bestimmt. Es wurden 100µl Probenflüssigkeit pro Vertiefung der 96-Well-Platte (Greiner) vermessen, wobei eine top-Messung mit einem Verstärkungsfaktor von 80 durchgeführt wurde. Für die Kalibrierung des Chipsystems wurde die Fluoreszenzintensität von 500µl Probenflüssigkeit je Mikrokanal mittels bottom-Messung und einer Verstärkung von 109 bestimmt.

#### 8.1.1 Kalibrationsgeraden zu den 1µm Partikeln

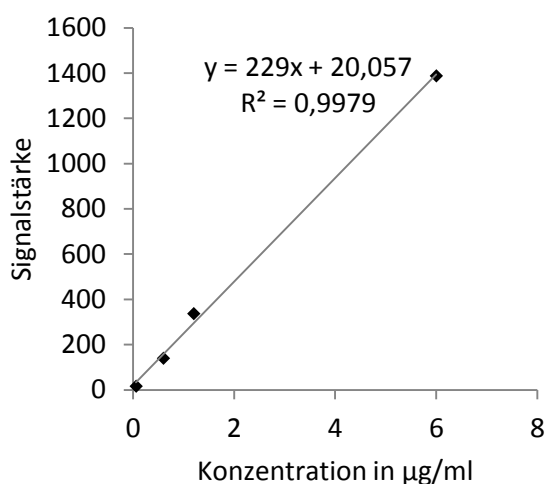
- Kalibrationsgerade der 1µm Partikel für die 96-Well-Platte (Greiner)

Konzentration in µg/ml	Fluoreszenz- intensität
125	48697
62,5	25916
31,3	13237
15,6	7003
7,81	3469
3,91	1750
1,95	835
0,977	443
0,488	219
0,244	112
0,122	57



- Kalibrationsgerade der 1µm Partikel für die Kanäle des Chipsystems

Konzentration in µg/ml	Fluoreszenz- intensität
5,999999175	1387,62
1,199999835	336,7658333
0,599999918	139,5991667
0,059999992	16,16166667

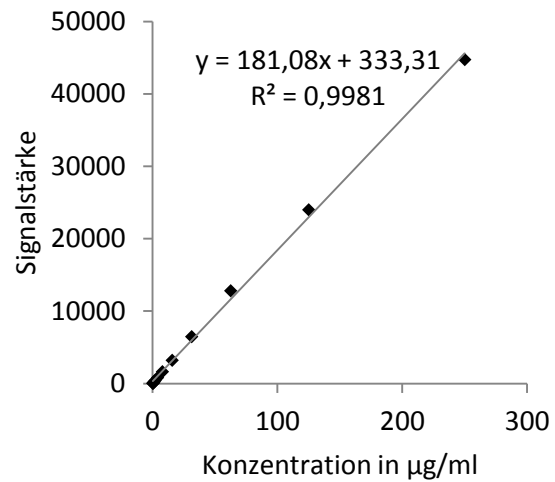




### 8.1.2 Kalibrationsgeraden zu den 3µm Partikeln

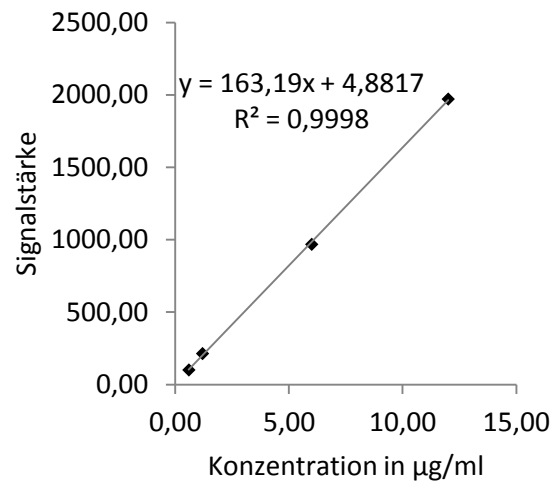
- Kalibrationsgerade der 3µm Partikel für die 96-Well-Platte (Greiner)

Konzentration in µg/ml	Fluoreszenz- intensität
250	44744
125	23998
62,5	12817
31,3	6480
15,6	3217
7,81	1642
3,91	817
1,95	417
0,977	203
0,488	103
0,244	50
0,122	30



- Kalibrationsgerade der 3µm Partikel für die Kanäle des Chipsystems

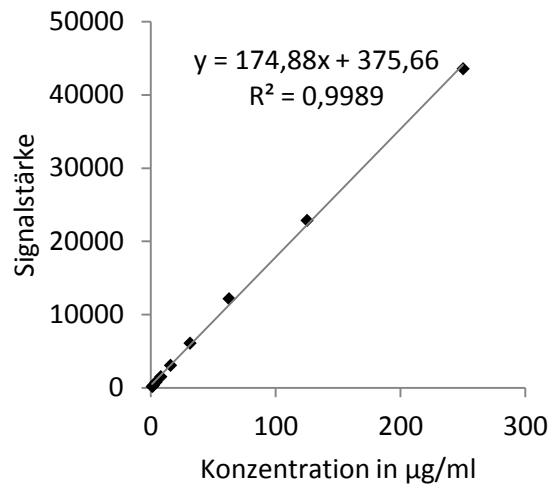
Konzentration in µg/ml	Fluoreszenz- intensität
12,00	1970,50
6,00	967,33
1,20	213,10
0,60	99,87



### 8.1.3 Kalibrationsgeraden zu den 6µm Partikeln

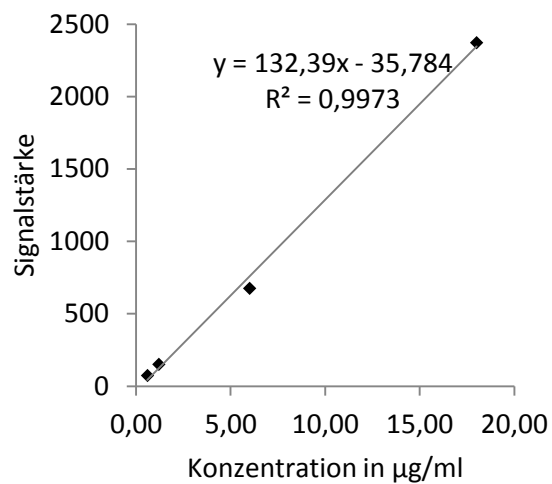
- Kalibrationsgerade der 6µm Partikel für die 96-Well-Platte (Greiner)

Konzentration in µg/ml	Fluoreszenz- intensität
250	43552
125	22857
62,5	12171
31,3	6110
15,6	3086
7,81	1536
3,91	782
1,95	366
0,977	192



- Kalibrationsgerade der 6µm Partikel für die Kanäle des Chipsystems

Konzentration in µg/ml	Fluoreszenz- intensität
18,00	2372
6,00	676
1,20	151
0,60	74

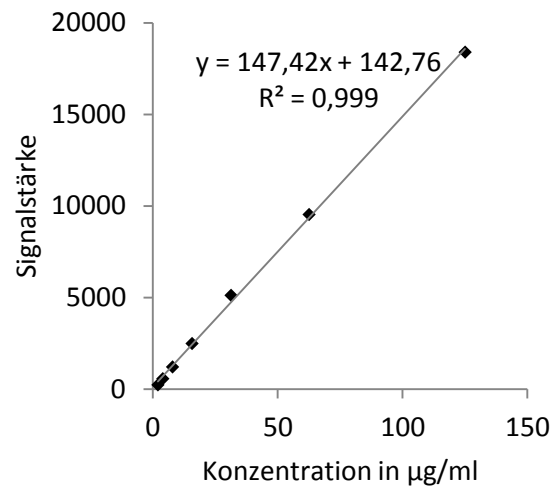


#### 8.1.4 Kalibrationsgeraden zu den 10µm Partikeln

Die Sedimentation der 10µm Partikel erfolgt so rasch, dass schon nach der Fluoreszenzintensitäts-Bestimmung mehrerer Wells bzw. Mikrokanäle ein makroskopisch sichtbarer Unterschied feststellbar ist. Daher wurde jeder Punkt der Kalibrationsgeraden separat vermessen.

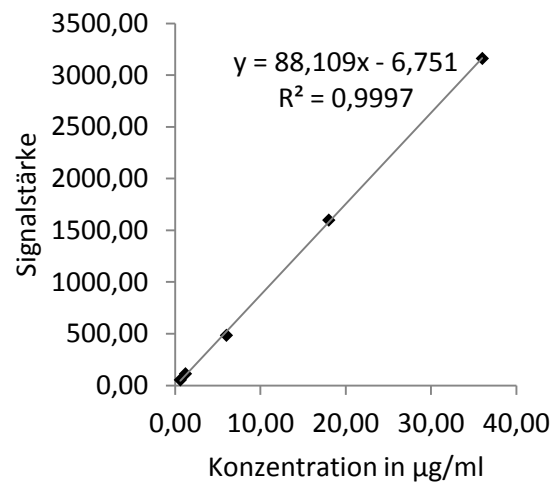
- Kalibrationsgerade der 10µm Partikel für die 96-Well-Platte (Greiner)

Konzentration in µg/ml	Fluoreszenz- intensität
125	18396
62,5	9534
31,3	5122
15,6	2493
7,81	1215
3,91	572
1,95	235



- Kalibrationsgerade der 10µm Partikel für die Kanäle des Chipsystems

Konzentration in µg/ml	Fluoreszenz- intensität
36,00	3161,33
18,00	1598,56
6,00	484,73
1,20	113,19
0,60	53,90



## 8.2 Zellversuche Caco-2

Der Blindwert des Chipsystems mit SV-HUC-1-Monolayern beträgt 12,0 unter den oben genannten Messbedingungen.  $X_{\text{vorne}}$  (xv),  $x_{\text{hinten}}$  (xh) und y entsprechen den drei Längen des quadratischen Kanals, die vom Messraster erfasst werden.

### 8.2.1 Rohdaten zu den 1µm Partikeln

#### Stationäre pulse-incubation - Stationäre chase-incubation

##### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 44,0 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	818	899	844	769	770	825	883	899	135	183	133	115	110	136	146	143
xh	903	895	908	942	869	878	858	832	167	149	165	235	164	144	129	121
y	856	862	833	789	748	749	792	870	208	182	191	176	139	124	112	134
Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 35,7 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	566	526	499	500	499	464	522	545	139	131	95	80	69	59	58	74
xh	568	560	564	559	562	553	532	524	117	95	109	99	129	101	78	86
y	568	560	558	575	530	531	525	540	139	125	97	143	96	116	123	117
unbehandelte Partikel									Konzentration: 37,8 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	368	384	363	339	355	362	371	380	52	49	46	46	45	46	48	49
xh	343	372	374	392	396	388	384	377	62	73	68	77	64	62	72	82
y	367	389	399	380	375	369	361	356	55	56	52	47	45	50	50	54

##### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 44,0 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	536	580	569	574	522	507	511	512	134	141	179	178	134	135	108	102
xh	462	505	430	412	401	421	468	667	128	101	85	90	88	94	107	113
y	467	477	478	486	514	529	510	492	119	102	92	97	130	174	165	162
Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 35,7 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	692	698	644	670	657	687	692	675	149	152	134	149	149	126	139	140
xh	589	591	582	605	555	550	564	522	134	123	133	97	100	90	100	102
y	608	594	565	587	615	607	637	658	139	88	78	97	134	117	136	179
unbehandelte Partikel									Konzentration: 37,8 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	390	418	401	412	416	435	452	430	71	72	67	72	84	88	94	86
xh	358	372	388	355	363	374	386	369	57	58	57	64	56	58	58	60
y	391	409	406	367	364	368	394	390	53	55	55	50	58	59	62	65

## Stationäre pulse-incubation - Chase-incubation unter Flussbedingungen (306µm/s)

### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 44,0 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	306	314	289	301	338	286	309	321	280	292	285	269	274	265	314	308
xh	298	313	308	349	335	347	316	311	294	294	307	334	355	345	296	313
y	306	271	267	252	277	279	270	301	306	292	286	303	284	287	281	271

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 35,7 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	201	204	200	207	196	202	215	225	197	196	215	194	220	201	200	218
xh	201	233	235	240	254	233	203	208	196	204	227	240	249	227	217	193
y	209	204	184	174	225	230	200	187	197	221	191	181	203	197	201	196

unbehandelte Partikel									Konzentration: 35,1 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	175	182	182	188	190	181	186	191	164	162	178	169	164	163	178	188
xh	176	175	170	161	162	166	176	175	182	171	166	169	161	159	168	169
y	161	152	136	145	164	173	174	163	188	172	168	166	168	181	177	170

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 44,0 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	263	297	284	269	282	272	287	290	72	411	393	466	421	379	360	466
xh	332	328	301	379	295	273	288	326	84	410	404	420	431	395	376	365
y	370	317	315	302	299	281	272	277	123	418	416	439	490	491	428	456

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 35,7 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	456	464	504	501	522	511	535	488	81	63	69	63	113	75	71	79
xh	489	463	473	500	481	481	471	475	96	77	75	100	123	110	102	113
y	458	477	476	489	474	494	449	464	105	88	69	64	73	83	81	80

unbehandelte Partikel									Konzentration: 35,1 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	626	659	640	651	627	649	669	653	79	89	75	66	70	65	74	68
xh	563	604	638	644	640	624	631	629	59	64	63	72	71	78	80	77
y	622	671	680	634	629	647	644	662	84	78	80	78	71	63	68	74

## Stationäre pulse-incubation - Chase-incubation unter Flussbedingungen (849µm/s)

### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 41,7 µg/ml								
	pulse								chase								
xv	440	453	434	452	450	445	478	480	219	219	201	182	181	200	229	218	
xh	349	364	369	419	495	478	451	435	118	121	118	143	179	234	198	202	
y	366	340	345	370	383	412	379	380	112	92	89	132	130	139	146	168	

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 40,9 µg/ml								
	pulse								chase								
xv	395	408	411	437	431	402	399	419	85	105	92	100	100	85	98	97	
xh	417	431	456	466	483	440	464	474	81	85	92	90	102	104	112	107	
y	415	420	428	418	441	447	426	437	78	65	73	81	85	82	75	80	

unbehandelte Partikel									Konzentration: 40,5 µg/ml								
	pulse								chase								
xv	378	371	381	415	440	388	384	356	96	97	97	112	118	106	105	99	
xh	380	379	398	432	428	404	401	408	83	83	84	95	95	118	122	120	
y	353	354	366	363	374	364	366	379	81	78	82	82	85	92	85	94	

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 41,7 µg/ml								
	pulse								chase								
xv	418	464	410	417	436	392	427	447	162	172	116	120	131	150	171	182	
xh	375	407	405	401	387	352	383	394	105	108	115	96	94	96	121	146	
y	352	364	377	386	393	412	424	406	88	96	104	113	123	137	142	139	

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 40,9 µg/ml								
	pulse								chase								
xv	491	498	497	564	523	520	529	516	153	148	155	164	148	161	159	147	
xh	477	493	503	499	477	480	515	494	111	107	109	121	119	127	145	126	
y	451	443	447	468	485	479	483	486	107	108	115	132	140	146	152	152	

unbehandelte Partikel									Konzentration: 40,5 µg/ml								
	pulse								chase								
xv	359	376	384	415	415	421	389	379	101	95	93	107	104	101	99	91	
xh	362	382	385	429	382	363	354	348	76	85	90	102	88	84	91	92	
y	335	337	371	398	389	399	409	382	82	80	90	97	92	103	108	109	

## Stationäre pulse-incubation - Chase-incubation unter Flussbedingungen (1911µm/s)

### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 39,1 µg/ml

	pulse								chase							
xv	426	422	415	373	392	429	418	445	261	271	272	241	233	268	269	286
xh	410	419	403	427	431	468	458	468	244	242	233	258	263	297	288	286
y	405	408	411	399	457	451	448	419	236	238	254	238	274	278	282	247

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 42,8 µg/ml

	pulse								chase							
xv	221	245	261	256	239	232	237	247	88	111	119	111	96	94	89	106
xh	233	229	227	216	213	220	234	253	77	85	86	76	85	78	76	85
y	241	283	279	280	314	290	266	248	107	126	129	125	133	123	112	96

unbehandelte Partikel

Konzentration: 45,3 µg/ml

	pulse								chase							
xv	167	170	160	170	178	168	190	188	59	59	60	71	66	61	85	74
xh	167	197	187	176	169	175	183	201	64	70	73	62	53	57	69	74
y	175	191	191	194	183	184	198	171	67	79	84	66	63	72	81	64

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 39,1 µg/ml

	pulse								chase							
xv	265	236	239	311	318	348	357	321	204	172	178	230	229	261	267	225
xh	249	251	305	316	351	315	312	281	177	170	230	230	247	212	238	203
y	245	257	272	285	279	302	351	347	167	172	188	194	190	219	266	261

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 42,8 µg/ml

	pulse								chase							
xv	236	242	210	210	201	248	256	236	143	146	119	99	103	139	170	151
xh	240	257	281	271	272	261	263	259	129	154	169	162	153	152	160	144
y	242	266	281	289	255	237	240	243	142	156	175	181	162	135	139	149

unbehandelte Partikel

Konzentration: 45,3 µg/ml

	pulse								chase							
xv	123	151	162	184	165	182	180	208	58	73	85	91	88	114	106	121
xh	111	131	124	134	151	163	146	142	41	52	44	62	70	83	58	62
y	112	128	133	125	133	142	140	132	38	35	43	44	44	57	46	50

## Pulse-incubation unter Flussbedingungen - Chase-incubation unter Flussbedingungen

### 1. Versuch

(306µm/s)

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 44,0 µg/ml

	pulse	chase
xv	654 682 678 671 670 702 722 731	164 179 170 154 151 162 152 148
xh	662 684 676 666 666 639 642 633	128 123 127 125 129 135 147 144
y	614 643 664 659 657 668 669 644	136 145 140 145 162 170 170 166

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 35,7 µg/ml

	pulse	chase
xv	472 481 506 488 444 464 467 482	114 113 118 99 87 80 63 78
xh	520 506 490 481 472 474 464 504	115 107 87 78 79 80 71 95
y	502 527 503 507 506 480 478 500	120 116 96 88 97 104 116 110

unbehandelte Partikel

Konzentration: 35,1 µg/ml

	pulse	chase
xv	132 137 126 129 137 130 185 134	40 46 40 42 41 38 31 26
xh	122 132 133 140 140 142 157 150	31 33 37 35 37 39 43 50
y	126 136 127 129 142 124 122 122	33 43 44 45 61 40 41 42

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 44,0 µg/ml

	pulse	chase
xv	346 341 335 343 365 351 355 364	153 165 152 149 139 146 154 145
xh	317 346 348 364 334 352 358 340	133 130 141 134 121 159 146 142
y	332 346 348 347 343 361 407 374	131 136 154 146 130 148 197 162

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 35,7 µg/ml

	pulse	chase
xv	299 284 279 351 318 284 291 276	119 73 86 93 86 93 83 75
xh	320 307 291 290 292 278 259 254	117 104 97 85 106 101 85 95
y	313 295 321 316 322 322 318 324	105 84 100 117 107 110 102 106

unbehandelte Partikel

Konzentration: 35,1 µg/ml

	pulse	chase
xv	263 277 282 276 290 287 322 304	79 75 83 75 79 76 76 79
xh	256 281 270 256 264 277 288 274	63 72 74 71 72 74 73 75
y	281 297 292 285 281 267 281 283	64 69 70 70 113 86 73 74



## Pulse-incubation unter Flussbedingungen - Chase-incubation unter Flussbedingungen

### 1. Versuch

(849µm/s)

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 41,7 µg/ml

	pulse								chase							
xv	481	503	509	529	488	505	534	502	226	248	257	249	255	249	255	236
xh	73	86	237	435	508	516	139	121	210	196	221	231	233	230	226	240
y	468	518	530	540	528	501	502	485	216	257	258	264	260	236	240	221

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 40,9 µg/ml

	pulse								chase							
xv	350	349	324	415	461	412	362	353	119	113	108	145	133	112	124	119
xh	94	66	186	350	352	357	47	55	95	86	89	87	94	94	105	87
y	312	323	328	353	359	401	392	371	106	111	109	112	127	149	145	140

unbehandelte Partikel

Konzentration: 40,5 µg/ml

	pulse								chase							
xv	399	407	420	444	453	408	410	351	84	89	99	94	88	83	88	72
xh	83	84	359	363	376	273	69	76	80	76	80	84	79	78	77	74
y	388	395	382	385	367	380	417	409	80	80	92	88	89	82	89	89

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 41,7 µg/ml

	pulse								chase							
xv	405	402	425	457	427	424	438	420	194	182	178	183	191	186	181	182
xh	399	423	444	444	444	428	418	409	182	187	192	200	207	194	178	176
y	419	431	412	407	429	434	405	412	212	201	187	181	198	213	203	211

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 40,9 µg/ml

	pulse								chase							
xv	493	515	546	508	491	484	508	480	145	161	164	148	155	143	141	142
xh	483	487	474	524	517	474	449	458	144	127	144	159	148	139	135	131
y	493	518	535	499	496	509	513	488	148	140	160	137	133	153	146	141

unbehandelte Partikel

Konzentration: 40,5 µg/ml

	pulse								chase							
xv	454	458	434	445	481	443	458	460	77	78	89	102	93	88	85	85
xh	118	140	544	458	434	292	71	49	108	84	75	77	75	68	71	70
y	437	445	470	484	490	489	484	468	74	69	82	93	84	86	89	75

## Pulse-incubation unter Flussbedingungen - Chase-incubation unter Flussbedingungen

### 1. Versuch

(1911µm/s)

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 42,4 µg/ml

	pulse								chase							
xv	160	164	167	199	197	163	188	193	137	121	136	150	165	136	145	144
xh	177	142	123	138	151	143	146	135	143	105	98	107	104	111	109	106
y	182	206	196	205	204	198	180	178	162	158	158	162	166	152	156	142

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 39,7 µg/ml

	pulse								chase							
xv	115	116	104	111	118	115	102	122	76	83	68	92	101	85	76	93
xh	157	135	91	72	68	80	98	101	119	86	56	46	41	46	60	71
y	184	161	134	148	136	128	144	125	140	107	93	106	99	91	96	88

unbehandelte Partikel

Konzentration: 41,7 µg/ml

	pulse								chase							
xv	57	49	47	50	47	46	51	47	23	24	25	24	23	23	21	20
xh	58	65	54	57	53	60	59	56	28	29	29	28	27	32	31	31
y	68	65	63	59	52	53	62	61	30	31	28	27	26	23	28	28

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 42,4 µg/ml

	pulse								chase							
xv	184	129	139	211	152	164	133	195	147	94	105	141	114	117	102	171
xh	214	176	140	155	173	194	189	224	167	136	104	112	123	154	154	189
y	207	203	208	192	190	182	170	181	119	102	92	97	130	174	165	162

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 39,7 µg/ml

	pulse								chase							
xv	159	143	153	146	143	121	125	104	97	86	88	89	92	78	68	60
xh	118	143	181	162	195	223	217	214	66	92	91	87	138	141	154	155
y	125	143	205	206	190	194	183	209	70	96	148	147	148	146	117	145

unbehandelte Partikel

Konzentration: 41,7 µg/ml

	pulse								chase							
xv	58	62	65	70	55	57	51	61	27	30	35	27	32	30	26	33
xh	70	72	70	68	63	75	80	83	36	42	36	31	32	44	45	50
y	69	84	79	77	86	86	76	69	32	39	41	44	50	49	46	39

## 8.2.2 Rohdaten zu den 3µm Partikeln

### Stationäre pulse-incubation - Stationäre chase-incubation

#### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 42,3 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	408	388	488	391	427	404	464	518	118	112	92	92	118	134	204	284
xh	361	338	347	373	345	329	296	305	120	107	95	109	108	78	95	102
y	369	381	368	377	413	395	362	388	137	130	111	137	181	172	132	151

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 42,6 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	400	372	392	421	474	425	410	423	155	103	99	154	144	153	168	210
xh	326	327	310	332	349	342	288	293	134	189	120	129	119	71	66	77
y	325	374	351	419	392	496	381	414	112	92	112	163	141	142	118	140

unbehandelte Partikel									Konzentration: 42,8 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	192	178	180	267	309	204	228	247	51	52	55	52	51	53	47	46
xh	239	230	234	242	201	192	189	185	60	50	53	71	55	45	44	49
y	215	214	212	215	206	211	232	218	81	64	54	55	49	51	61	52

#### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 42,3 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	825	664	762	650	696	766	926	1208	825	664	762	650	696	766	926	1208
xh	627	632	745	816	933	765	683	695	627	632	745	816	933	765	683	695
y	770	620	540	593	592	598	544	640	770	620	540	593	592	598	544	640

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 42,6 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	1159	1187	1078	1193	1233	1240	1285	1332	1159	1187	1078	1193	1233	1240	1285	1332
xh	1206	1034	1097	1110	1117	1095	1202	1303	1206	1034	1097	1110	1117	1095	1202	1303
y	1140	1133	1101	1082	1066	1069	1130	1161	1140	1133	1101	1082	1066	1069	1130	1161

unbehandelte Partikel									Konzentration: 42,8 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	860	723	688	752	764	774	835	1056	860	723	688	752	764	774	835	1056
xh	875	791	757	843	875	841	834	934	875	791	757	843	875	841	834	934
y	914	837	810	755	731	703	737	851	914	837	810	755	731	703	737	851

## Stationäre pulse-incubation - Chase-incubation unter Flussbedingungen (306µm/s)

### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 42,3 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	347	313	265	283	288	310	304	327	129	119	85	103	112	123	126	148
xh	369	399	365	413	395	301	338	313	163	160	129	159	140	125	95	82
y	391	318	287	317	319	352	357	340	173	115	106	122	137	109	117	104

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 42,6 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	381	264	329	335	390	344	384	413	246	107	131	158	170	150	148	240
xh	431	375	409	405	377	352	342	290	248	212	241	205	199	143	168	115
y	408	434	470	423	375	372	382	415	247	225	249	202	209	167	174	233

unbehandelte Partikel									Konzentration: 42,8 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	346	228	168	176	175	172	199	232	234	86	47	52	45	43	48	73
xh	247	206	191	198	212	171	164	182	84	58	50	55	74	42	40	43
y	231	210	194	204	199	208	173	205	83	59	48	56	72	46	34	73

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 42,3 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	277	261	265	253	255	288	292	322	277	261	265	253	255	288	292	322
xh	300	314	317	325	350	346	306	241	300	314	317	325	350	346	306	241
y	269	243	246	243	267	252	262	288	269	243	246	243	267	252	262	288

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 42,6 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	296	251	251	256	270	376	378	367	296	251	251	256	270	376	378	367
xh	383	376	394	397	361	324	314	274	383	376	394	397	361	324	314	274
y	382	328	328	303	336	282	342	300	382	328	328	303	336	282	342	300

unbehandelte Partikel									42,8 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	209	201	227	250	255	248	239	250	209	201	227	250	255	248	239	250
xh	331	283	267	287	250	248	244	232	331	283	267	287	250	248	244	232
y	364	291	277	275	286	246	245	236	364	291	277	275	286	246	245	236

## Stationäre pulse-incubation - Chase-incubation unter Flussbedingungen (849µm/s)

### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 39,0 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	217	143	226	266	246	165	215	158	179	111	160	204	192	125	165	121
xh	183	180	176	135	160	134	145	124	143	138	137	102	114	87	98	80
y	159	178	196	230	264	270	257	264	127	142	172	198	222	224	230	211

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 40,8 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	247	282	306	304	266	251	198	170	218	226	255	236	199	212	171	140
xh	200	177	143	156	180	175	131	114	157	148	114	106	144	136	90	85
y	167	225	180	220	247	268	245	219	124	178	153	186	213	223	212	193

unbehandelte Partikel									Konzentration: 44,2 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	101	79	89	111	102	84	71	76	43	35	42	47	46	37	34	45
xh	90	90	85	92	97	76	83	63	39	41	37	41	45	35	30	31
y	78	62	75	84	133	106	78	83	36	34	38	42	49	60	37	40

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 39,0 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	614	546	564	602	704	637	566	530	614	546	564	602	704	637	566	530
xh	692	647	617	657	618	594	523	585	692	647	617	657	618	594	523	585
y	868	711	553	536	550	517	508	572	868	711	553	536	550	517	508	572

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 40,8 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	498	453	509	643	567	480	483	461	498	453	509	643	567	480	483	461
xh	547	496	465	495	528	397	377	417	547	496	465	495	528	397	377	417
y	541	436	429	468	556	541	424	493	541	436	429	468	556	541	424	493

unbehandelte Partikel									Konzentration: 44,2 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	520	526	502	527	566	582	563	605	520	526	502	527	566	582	563	605
xh	721	634	631	651	642	531	508	487	721	634	631	651	642	531	508	487
y	704	629	601	548	479	454	473	489	704	629	601	548	479	454	473	489

## Stationäre pulse-incubation - Chase-incubation unter Flussbedingungen (1911µm/s)

### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 41,2 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	470	343	286	380	396	340	363	418	277	198	177	235	255	202	269	307
xh	328	288	245	197	243	199	206	233	212	158	138	85	123	92	129	131
y	394	315	341	364	325	318	345	479	267	203	260	251	197	206	226	337

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 38,1 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	219	167	149	147	161	157	185	198	86	49	46	49	51	65	75	93
xh	210	151	128	146	143	149	137	161	108	58	48	41	53	58	64	88
y	173	131	128	185	175	196	195	235	87	53	44	63	60	54	55	94

unbehandelte Partikel									Konzentration: 43,4 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	248	135	136	127	125	119	115	126	123	51	53	39	39	44	48	47
xh	142	119	118	121	143	127	125	116	50	36	38	42	46	39	44	39
y	114	118	115	139	169	160	142	189	42	43	38	47	58	48	50	81

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 41,2 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	517	511	518	583	605	586	656	592	517	511	518	583	605	586	656	592
xh	606	453	451	360	371	395	375	405	606	453	451	360	371	395	375	405
y	610	539	505	571	485	474	487	531	610	539	505	571	485	474	487	531

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 38,1 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	323	211	198	198	235	364	258	203	323	211	198	198	235	364	258	203
xh	260	225	224	241	275	210	193	180	260	225	224	241	275	210	193	180
y	241	219	184	225	208	202	202	271	241	219	184	225	208	202	202	271

unbehandelte Partikel									Konzentration: 43,4 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	248	135	136	127	125	119	115	126	248	135	136	127	125	119	115	126
xh	142	119	118	121	143	127	125	116	142	119	118	121	143	127	125	116
y	114	118	115	139	169	160	142	189	114	118	115	139	169	160	142	189

## Pulse-incubation unter Flussbedingungen - Chase-incubation unter Flussbedingungen

### 1. Versuch

(306µm/s)

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 42,3 µg/ml

	pulse								chase							
xv	356	359	360	351	326	281	250	234	156	173	165	161	140	115	100	97
xh	364	365	336	369	348	287	248	263	165	167	149	152	137	111	106	136
y	348	264	287	307	334	329	338	452	147	110	136	135	162	175	184	267

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 42,6 µg/ml

	pulse								chase							
xv	386	443	501	544	688	595	440	407	195	244	238	267	348	328	211	204
xh	517	496	430	447	413	471	393	353	314	270	250	248	247	273	228	170
y	488	458	514	510	496	533	503	461	282	250	315	287	302	311	276	280

unbehandelte Partikel

Konzentration: 42,8 µg/ml

	pulse								chase							
xv	325	328	296	412	448	374	326	311	104	97	87	92	143	94	82	79
xh	388	351	375	404	426	316	290	282	92	92	93	116	77	63	61	50
y	371	344	386	448	424	367	356	342	85	75	90	104	95	105	76	99

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 42,3 µg/ml

	pulse								chase							
xv	543	408	395	474	496	472	407	455	543	408	395	474	496	472	407	455
xh	494	479	462	496	455	364	353	318	494	479	462	496	455	364	353	318
y	515	511	446	431	458	533	528	502	515	511	446	431	458	533	528	502

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 42,6 µg/ml

	pulse								chase							
xv	519	475	486	510	564	578	535	566	519	475	486	510	564	578	535	566
xh	518	444	426	472	516	429	402	354	518	444	426	472	516	429	402	354
y	557	559	535	497	562	550	476	549	557	559	535	497	562	550	476	549

unbehandelte Partikel

Konzentration: 42,8 µg/ml

	pulse								chase							
xv	470	411	393	466	421	379	360	466	470	411	393	466	421	379	360	466
xh	456	410	404	420	431	395	376	365	456	410	404	420	431	395	376	365
y	464	418	416	439	490	491	428	456	464	418	416	439	490	491	428	456

## Pulse-incubation unter Flussbedingungen - Chase-incubation unter Flussbedingungen

### 1. Versuch

(849µm/s)

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 39,0

µg/ml

	pulse								chase							
xv	217	143	226	266	246	165	215	158	179	111	160	204	192	125	165	121
xh	183	180	176	135	160	134	145	124	143	138	137	102	114	87	98	80
y	159	178	196	230	264	270	257	264	127	142	172	198	222	224	230	211

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 40,8

µg/ml

	pulse								chase							
xv	247	282	306	304	266	251	198	170	218	226	255	236	199	212	171	140
xh	200	177	143	156	180	175	131	114	157	148	114	106	144	136	90	85
y	167	225	180	220	247	268	245	219	124	178	153	186	213	223	212	193

unbehandelte Partikel

Konzentration: 44,2

µg/ml

	pulse								chase							
xv	101	79	89	111	102	84	71	76	43	35	42	47	46	37	34	45
xh	90	90	85	92	97	76	83	63	39	41	37	41	45	35	30	31
y	78	62	75	84	133	106	78	83	36	34	38	42	49	60	37	40

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 39,0

µg/ml

	pulse								chase							
xv	206	196	251	314	244	215	205	196	206	196	251	314	244	215	205	196
xh	210	211	233	248	267	226	193	179	210	211	233	248	267	226	193	179
y	259	234	220	242	213	217	188	206	259	234	220	242	213	217	188	206

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 40,8

µg/ml

	pulse								chase							
xv	281	262	277	291	340	321	261	232	281	262	277	291	340	321	261	232
xh	225	221	224	253	248	248	242	176	225	221	224	253	248	248	242	176
y	229	219	206	174	155	186	246	267	229	219	206	174	155	186	246	267

unbehandelte Partikel

Konzentration: 44,2

µg/ml

	pulse								chase							
xv	292	277	258	288	357	309	285	294	292	277	258	288	357	309	285	294
xh	283	265	243	217	233	229	232	232	283	265	243	217	233	229	232	232
y	360	305	240	221	213	223	232	272	360	305	240	221	213	223	232	272



## Pulse-incubation unter Flussbedingungen - Chase-incubation unter Flussbedingungen

### 1. Versuch

(1911µm/s)

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 42,6 µg/ml

	pulse								chase							
xv	473	486	470	482	490	410	349	207	486	481	456	451	420	349	299	166
xh	238	276	249	359	384	426	436	321	242	266	248	366	382	446	417	335
y	348	393	435	477	513	482	455	467	338	393	416	471	518	478	456	426

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 35,5 µg/ml

	pulse								chase							
xv	374	411	356	392	391	377	298	207	355	362	339	336	341	317	181	107
xh	318	189	246	329	365	349	352	249	259	125	225	301	342	357	333	214
y	226	146	230	335	372	356	364	350	173	112	203	314	315	330	335	338

unbehandelte Partikel

Konzentration: 38,3 µg/ml

	pulse								chase							
xv	495	461	404	399	423	385	280	142	478	433	378	341	394	337	205	85
xh	338	148	80	157	303	349	297	211	387	118	49	122	230	303	274	200
y	410	366	333	420	424	420	448	486	455	378	330	412	420	439	447	469

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 42,6 µg/ml

	pulse								chase							
xv	246	442	447	411	316	205	99	88	246	442	447	411	316	205	99	88
xh	136	228	217	333	407	437	424	319	136	228	217	333	407	437	424	319
y	149	143	238	346	444	487	315	148	149	143	238	346	444	487	315	148

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 35,5 µg/ml

	pulse								chase							
xv	373	388	405	335	300	239	186	112	373	388	405	335	300	239	186	112
xh	324	211	216	354	413	459	429	318	324	211	216	354	413	459	429	318
y	395	403	375	360	391	377	390	360	395	403	375	360	391	377	390	360

unbehandelte Partikel

Konzentration: 38,3 µg/ml

	pulse								chase							
xv	378	344	286	264	200	228	126	95	378	344	286	264	200	228	126	95
xh	89	81	81	114	309	420	411	281	89	81	81	114	309	420	411	281
y	101	87	158	288	311	313	314	317	101	87	158	288	311	313	314	317

### 8.2.3 Rohdaten zu den 6µm Partikeln

#### Stationäre pulse-incubation - Stationäre chase-incubation

##### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 43,0 µg/ml								
	pulse								chase								
xv	1603	1533	1310	1274	1292	1125	1238	1326	1018	846	738	702	691	521	465	662	
xh	1739	1866	1775	1372	1305	1540	1503	1560	1209	1237	1144	695	646	886	846	990	
y	1755	1561	1404	1374	1413	1530	1835	1992	1318	1214	894	823	855	911	1312	1582	
Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 41,6 µg/ml								
	pulse								chase								
xv	1277	1197	1245	1166	1033	1185	1352	1416	795	669	611	584	378	300	475	604	
xh	1443	1103	1201	1200	1165	1122	1116	1080	918	533	486	427	427	459	484	545	
y	1539	1291	1254	1157	1208	1333	1329	1434	938	680	526	408	478	593	642	883	
unbehandelte Partikel									Konzentration: 39,4 µg/ml								
	pulse								chase								
xv	1137	932	924	910	879	821	974	1092	595	318	311	317	232	174	203	354	
xh	1215	821	781	768	800	794	808	844	630	256	243	241	278	171	180	185	
y	1222	1041	980	1071	1182	1089	1112	1292	629	492	391	307	323	378	482	749	

##### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 43,0 µg/ml								
	pulse								chase								
xv	2001	2136	1472	1573	1723	1814	1784	1669	1668	1811	1181	1328	1455	1471	1494	1262	
xh	2200	1586	1292	1160	1241	1195	1417	1474	1846	1113	895	778	873	893	1026	733	
y	1752	1464	1362	1470	1380	1351	1339	1518	1447	1299	1174	1294	1091	1144	1089	1229	
Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 41,6 µg/ml								
	pulse								chase								
xv	872	829	468	582	596	579	931	1040	562	538	234	256	300	306	610	684	
xh	1323	770	841	1105	780	845	473	340	907	443	496	682	434	519	197	127	
y	1723	865	657	575	777	580	708	932	1359	494	381	321	460	292	414	642	
unbehandelte Partikel									Konzentration: 39,4 µg/ml								
	pulse								chase								
xv	1031	921	680	581	754	885	1097	1249	662	533	363	401	621	829	886	1135	
xh	989	744	659	668	502	720	895	985	613	441	353	258	159	308	581	615	
y	901	524	467	471	562	697	716	859	708	251	264	174	303	355	478	577	

## Stationäre pulse-incubation - Chase-incubation unter Flussbedingungen (306µm/s)

### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 43,0 µg/ml

	pulse	chase
xv	1319 1321 1794 1487 1711 1645 1487 1234	2486 1091 1460 999 1221 1332 1235 1005
xh	1715 1944 1992 2132 2369 2149 2405 2062	1223 1277 1333 1409 1627 1395 1733 1583
y	1310 1529 1426 1232 1306 1605 1623 1908	1061 867 1067 1653 1635 1339 1086 1452

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 41,6 µg/ml

	pulse	chase
xv	1047 855 837 926 1111 948 954 1387	753 492 439 506 536 504 482 883
xh	2077 1716 1426 1696 1444 1085 965 1080	1418 941 749 882 776 501 485 565
y	1117 1085 777 902 912 927 1072 1231	1350 1029 965 800 721 654 615 756

unbehandelte Partikel

Konzentration: 39,4 µg/ml

	pulse	chase
xv	898 794 741 781 648 653 660 816	452 285 201 225 203 193 247 465
xh	1230 1011 874 901 811 634 716 822	648 377 310 472 254 139 119 169
y	1476 2191 1888 1521 1593 1416 1970 1882	502 220 298 557 434 240 224 324

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 43,0 µg/ml

	pulse	chase
xv	1120 1323 1292 1343 1431 1289 1389 1402	774 895 772 651 707 630 716 732
xh	1880 1501 1482 1715 2271 1694 1725 2142	1216 856 849 822 881 865 996 1545
y	1657 1491 1332 1332 1463 1379 1216 1145	1050 976 878 819 832 821 698 730

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 41,6 µg/ml

	pulse	chase
xv	1441 1433 1311 1265 1156 1094 1090 1223	593 507 504 522 508 477 409 624
xh	1562 1438 1488 1449 1757 1461 1322 1567	1419 1251 854 589 786 692 692 860
y	1745 1637 1658 1573 1531 1683 1646 1567	846 762 664 595 644 693 771 868

unbehandelte Partikel

Konzentration: 39,4 µg/ml

	pulse	chase
xv	1261 988 1016 907 934 775 777 912	342 226 244 237 268 231 239 400
xh	1258 1171 954 1334 1331 1046 1282 1342	548 378 219 198 304 332 378 503
y	1231 1158 1227 1362 1522 1421 1256 1201	939 638 232 350 495 331 291 364

## Stationäre pulse-incubation - Chase-incubation unter Flussbedingungen (849µm/s)

### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 37,9 µg/ml								
	pulse								chase								
xv	650	614	784	805	675	520	456	425	358	308	432	328	290	246	192	155	
xh	738	474	538	607	697	574	507	593	512	245	297	376	317	284	285	256	
y	931	833	737	938	959	744	765	746	749	663	520	632	538	403	396	419	

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 40,8 µg/ml								
	pulse								chase								
xv	374	394	359	441	496	436	361	386	128	101	124	217	234	123	99	89	
xh	446	410	406	384	412	346	358	356	211	187	135	106	83	89	113	115	
y	452	465	387	382	429	446	431	398	221	203	177	176	212	168	156	163	

unbehandelte Partikel									Konzentration: 39,5 µg/ml								
	pulse								chase								
xv	338	339	336	279	334	290	285	283	76	101	97	114	117	53	62	71	
xh	526	360	369	372	318	284	351	336	233	138	134	92	65	73	49	75	
y	428	362	351	355	338	321	379	325	161	121	92	144	202	110	98	109	

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 37,9 µg/ml								
	pulse								chase								
xv	1131	1287	1231	1200	927	1021	1149	1152	457	480	414	448	322	303	428	402	
xh	1054	967	884	1150	1214	1119	1203	1278	447	354	309	368	458	418	462	403	
y	1048	994	906	1037	997	827	902	1158	371	296	328	349	373	380	372	472	

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 40,8 µg/ml								
	pulse								chase								
xv	934	893	872	935	937	855	864	823	294	235	195	248	237	192	180	160	
xh	1019	914	955	972	946	886	761	879	425	289	217	235	229	227	176	157	
y	993	893	951	1768	1765	1312	1153	1131	341	257	283	388	435	343	226	220	

unbehandelte Partikel									Konzentration: 39,5 µg/ml								
	pulse								chase								
xv	765	733	801	800	687	643	655	680	198	140	191	289	199	154	127	142	
xh	731	748	786	746	781	704	724	701	145	116	124	170	140	124	157	133	
y	795	750	736	1315	1250	801	707	854	152	151	132	199	190	221	153	170	

## Stationäre pulse-incubation - Chase-incubation unter Flussbedingungen (1911µm/s)

### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 42,4 µg/ml

	pulse	chase
xv	1764 2186 1660 1585 1588 1282 968 1379	1792 1819 1505 1374 1421 1038 823 1260
xh	2540 2438 1565 1476 1791 1440 1517 1551	2455 2247 1278 1313 1578 1200 1385 1255
y	2396 1789 2184 2293 2046 2302 1939 1570	2232 1604 1986 2185 1893 1999 1730 1501

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 41,9 µg/ml

	pulse	chase
xv	1081 794 700 581 491 505 827 878	931 554 478 304 268 353 685 785
xh	1790 1475 1429 928 590 940 962 536	1426 1299 1124 666 360 763 623 322
y	1684 1245 1051 868 906 1235 1314 989	1399 962 809 604 690 1098 1020 836

unbehandelte Partikel

Konzentration: 41,3 µg/ml

	pulse	chase
xv	1123 903 686 774 665 616 933 1431	1077 793 479 641 595 500 853 1275
xh	934 881 666 395 437 391 468 482	736 682 389 180 238 224 284 300
y	900 576 511 520 607 743 753 1029	714 499 495 518 506 622 654 884

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 42,4 µg/ml

	pulse	chase
xv	2001 2136 1472 1573 1723 1814 1784 1669	1668 1811 1181 1328 1455 1471 1494 1262
xh	2200 1586 1292 1160 1241 1195 1417 1474	1846 1113 895 778 873 893 1026 733
y	1752 1464 1362 1470 1380 1351 1339 1518	1447 1299 1174 1294 1091 1144 1089 1229

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 41,9 µg/ml

	pulse	chase
xv	872 829 468 582 596 579 931 1040	562 538 234 256 300 306 610 684
xh	1323 770 841 1105 780 845 473 340	907 443 496 682 434 519 197 127
y	1723 865 657 575 777 580 708 932	1359 494 381 321 460 292 414 642

unbehandelte Partikel

Konzentration: 41,3 µg/ml

	pulse	chase
xv	1031 921 680 581 754 885 1097 1249	662 533 363 401 621 829 886 1135
xh	989 744 659 668 502 720 895 985	613 441 353 258 159 308 581 615
y	901 524 467 471 562 697 716 859	708 251 264 174 303 355 478 577

**Pulse-incubation unter Flussbedingungen - Chase-incubation unter Flussbedingungen****1. Versuch****(306µm/s)****WGA-modifizierte Partikel****Konzentration: 43,0 µg/ml**

	pulse	chase
xv	1744 1965 2094 2254 1950 2068 2232 1956	1576 1724 1823 1883 1627 1826 2100 1840
xh	1970 1939 1665 1556 1538 1443 1370 1112	1756 1720 1405 1252 1220 1191 1039 847
y	1759 2428 2549 2426 1989 1751 1965 2078	1659 2409 2499 2357 1752 1524 1808 1905

**Glycin-modifizierte Partikel****Konzentration: 41,6 µg/ml**

	pulse	chase
xv	1641 1461 1582 2176 1836 1625 1764 1927	1210 1036 1195 1449 1150 1200 1347 1578
xh	1290 1196 1135 1305 1370 1061 1090 1121	1021 956 898 955 1051 734 772 762
y	1310 1529 1426 1232 1306 1605 1623 1908	968 1050 1026 906 1003 1202 1110 1467

**unbehandelte Partikel****Konzentration: 39,4 µg/ml**

	pulse	chase
xv	1218 1120 1057 1601 1566 1404 1374 1323	966 913 773 1080 936 913 1050 1106
xh	1204 1148 903 820 659 681 847 608	880 817 617 514 422 388 465 393
y	1117 1085 777 902 912 927 1072 1231	777 659 417 509 588 563 765 845

**2. Versuch****WGA-modifizierte Partikel****Konzentration: 43,0 µg/ml**

	pulse	chase
xv	1267 1040 1146 1463 1540 1378 1517 1814	1112 817 886 1067 1187 1079 1161 1486
xh	1019 1144 1172 1464 1407 1467 1136 914	787 917 967 1155 1105 1146 808 520
y	1009 1136 1498 1510 1566 1441 1520 1438	713 930 1252 1289 1356 1125 1236 1178

**Glycin-modifizierte Partikel****Konzentration: 41,6 µg/ml**

	pulse	chase
xv	1368 911 961 1173 1253 1066 1081 1019	1027 572 613 615 663 626 654 817
xh	492 744 784 886 935 800 739 682	192 347 455 523 498 364 317 194
y	654 658 812 901 1135 998 1033 1369	214 249 377 463 621 472 593 1019

**unbehandelte Partikel****Konzentration: 39,4 µg/ml**

	pulse	chase
xv	561 564 551 518 895 975 678 604	252 197 248 279 481 400 308 378
xh	527 575 638 627 620 529 459 439	166 207 238 232 224 151 146 145
y	687 642 646 687 662 649 668 1132	349 296 291 304 306 342 379 915

## Pulse-incubation unter Flussbedingungen - Chase-incubation unter Flussbedingungen

### 1. Versuch

(849µm/s)

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 37,9

µg/ml

	pulse								chase							
xv	628	627	698	798	798	658	720	609	353	457	534	647	609	433	423	321
xh	878	859	786	775	619	464	416	337	709	706	589	565	390	220	134	113
y	997	945	791	645	679	607	578	614	707	639	618	515	470	437	410	373

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 40,8

µg/ml

	pulse								chase							
xv	366	360	380	384	435	408	327	334	107	93	95	152	152	130	87	65
xh	386	404	359	395	350	366	372	343	103	107	168	247	145	90	78	69
y	416	458	434	498	480	419	384	420	124	142	121	142	191	183	114	123

unbehandelte Partikel

Konzentration: 39,5

µg/ml

	pulse								chase							
xv	461	448	450	440	471	397	412	531	100	114	109	126	123	97	95	120
xh	503	435	439	427	379	372	410	355	146	129	103	137	98	90	78	54
y	516	453	470	572	586	480	472	519	143	75	85	137	195	224	133	122

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 37,9

µg/ml

	pulse								chase							
xv	854	900	798	918	780	741	770	585	358	432	429	473	318	303	194	208
xh	800	720	719	749	771	691	841	807	375	348	283	260	310	268	304	348
y	837	784	696	766	779	757	783	873	343	272	232	249	192	260	249	330

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 40,8

µg/ml

	pulse								chase							
xv	810	734	677	791	675	635	566	565	234	282	293	240	171	154	129	90
xh	1025	825	793	761	779	645	636	708	291	238	201	223	227	166	159	140
y	1116	787	791	850	1000	700	768	753	341	201	161	145	76	99	144	225

unbehandelte Partikel

Konzentration: 39,5

µg/ml

	pulse								chase							
xv	462	422	412	488	463	412	454	474	127	122	108	202	140	121	115	86
xh	889	596	514	538	535	383	392	426	387	197	143	189	163	125	95	129
y	1094	796	570	455	499	553	523	468	769	282	56	51	44	37	60	99

## Pulse-incubation unter Flussbedingungen - Chase-incubation unter Flussbedingungen

### 1. Versuch

(1911µm/s)

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 39,3 µg/ml

	pulse								chase							
xv	1944	1571	1130	798	691	596	382	403	1845	1511	1075	771	655	513	347	360
xh	294	270	582	915	883	999	1001	478	261	173	264	812	840	985	976	512
y	405	1034	1472	1591	1629	1641	1646	1804	284	237	282	832	1388	1521	1587	1802

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 41,5 µg/ml

	pulse								chase							
xv	1010	887	987	988	1011	786	394	231	899	738	824	859	807	631	286	119
xh	313	201	307	495	575	739	815	479	24	19	24	100	746	696	717	381
y	377	411	843	1144	1190	1273	1135	1182	63	292	541	998	1072	1100	987	1055

unbehandelte Partikel

Konzentration: 40,4 µg/ml

	pulse								chase							
xv	906	985	641	745	916	678	372	222	720	821	465	533	672	533	198	113
xh	169	117	281	505	698	692	586	303	40	26	35	60	574	491	403	205
y	342	501	780	1103	1147	1155	1250	1103	287	382	613	909	858	868	1000	821

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 39,3 µg/ml

	pulse								chase							
xv	1132	1020	778	502	388	506	521	447	945	770	542	299	131	195	146	57
xh	621	781	1166	1254	1356	1437	1286	798	467	624	1057	1183	1292	1289	1165	658
y	377	393	825	1267	1338	1384	1332	1141	235	249	649	1098	1131	1132	1051	948

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 41,5 µg/ml

	pulse								chase							
xv	1021	708	512	338	340	292	382	334	839	492	339	160	108	69	91	42
xh	323	364	385	661	925	961	834	470	170	225	227	478	713	764	680	286
y	307	434	725	634	770	934	977	1017	151	296	631	518	616	705	733	800

unbehandelte Partikel

Konzentration: 40,4 µg/ml

	pulse								chase							
xv	350	358	278	231	187	195	212	232	136	118	80	61	33	43	34	52
xh	352	195	201	206	305	374	454	298	227	49	41	69	141	257	303	172
y	344	324	425	443	417	529	471	391	235	187	243	230	228	321	284	230



## 8.2.4 Rohdaten zu den 10µm Partikeln

### Stationäre pulse-incubation - Stationäre chase-incubation

#### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 44,0 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	1052	616	586	689	708	756	963	1168	827	376	381	393	408	397	420	549
xh	410	446	452	447	474	487	544	425	235	215	210	221	237	309	352	277
y	533	756	834	981	1022	888	996	1090	346	501	545	640	684	648	666	808

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 43,1 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	1131	692	805	783	800	699	913	1069	712	336	317	291	396	333	590	721
xh	728	612	622	636	610	681	853	905	453	267	302	305	290	288	522	548
y	868	713	862	805	595	567	705	1037	508	308	332	341	255	209	390	659

unbehandelte Partikel									Konzentration: 42,6 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	1013	879	866	882	908	990	783	928	491	329	288	308	274	232	297	289
xh	942	746	823	755	775	795	910	912	430	289	332	339	260	253	364	471
y	1017	833	771	979	947	930	971	1298	541	452	312	342	380	358	348	833

#### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 44,0 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	1863	1737	1279	909	908	694	727	1091	1745	1492	941	514	458	547	479	834
xh	1277	1108	1072	1177	873	796	685	864	1260	1028	902	929	654	635	648	781
y	839	1038	1032	886	1326	1252	859	1031	951	1036	948	699	1224	967	735	868

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 43,1 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	1503	1543	1311	1007	977	962	1431	1136	1114	1015	911	470	437	477	1011	677
xh	1010	1201	1227	1322	1236	928	1060	1339	597	729	712	692	695	485	529	847
y	1098	1160	1129	888	810	1032	989	1153	551	642	692	444	404	592	539	1013

unbehandelte Partikel									Konzentration: 42,6 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	1227	1133	1205	1142	883	1011	1042	1011	466	422	407	454	525	491	473	492
xh	1109	1103	1057	894	943	943	926	952	460	420	475	356	333	389	418	480
y	1042	1085	1156	1131	1222	1259	1113	1219	423	534	490	425	386	464	500	576

## Stationäre pulse-incubation - Chase-incubation unter Flussbedingungen (306µm/s)

### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 44,0 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	1219	1010	1037	1408	1634	1238	974	1236	903	544	524	599	672	482	730	921
xh	1271	963	1055	1021	929	667	665	678	912	566	531	549	501	409	372	303
y	1152	937	795	837	1042	1244	1164	1193	766	525	437	498	627	949	743	868

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 43,1 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	974	789	857	1106	1362	998	861	775	694	324	344	355	714	379	312	280
xh	1271	961	975	843	824	942	923	764	630	484	406	408	529	350	359	303
y	989	975	1017	1029	1102	1066	1166	1245	421	361	400	510	650	640	674	721

unbehandelte Partikel									Konzentration: 42,6 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	1030	722	698	754	781	824	786	776	570	233	257	311	428	230	212	322
xh	762	732	665	671	680	617	666	686	373	252	270	294	358	243	228	306
y	653	650	677	834	793	868	833	1055	321	284	277	299	271	280	387	714

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 44,0 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	367	366	381	491	493	423	262	576	271	252	259	409	309	279	186	408
xh	1287	1115	801	824	1017	1161	921	753	1105	939	573	636	684	852	731	578
y	979	793	773	896	1115	1350	1190	783	853	681	697	705	924	1187	1014	604

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 43,1 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	428	350	352	363	521	387	222	250	376	246	222	234	432	247	104	159
xh	835	687	643	527	656	411	556	617	703	504	505	424	296	220	422	504
y	815	492	505	608	582	561	603	660	671	321	378	482	451	441	410	538

unbehandelte Partikel									Konzentration: 42,6 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	236	224	200	201	228	235	308	487	159	105	84	86	146	148	156	368
xh	266	341	347	289	219	198	230	280	187	185	239	149	117	94	114	195
y	278	215	224	242	287	228	313	174	172	135	100	132	173	140	245	120

## Stationäre pulse-incubation - Chase-incubation unter Flussbedingungen (849µm/s)

### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 42,4 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	721	983	1017	837	831	708	661	869	395	618	604	414	499	411	283	501
xh	756	776	826	1106	850	704	784	1010	470	440	532	860	562	380	374	222
y	556	608	633	638	569	636	573	596	344	388	358	402	349	356	252	290

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 44,8 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	704	890	944	786	694	678	699	1268	442	648	652	496	393	412	335	324
xh	664	723	744	745	984	820	669	556	353	387	533	484	641	570	310	192
y	663	719	761	752	809	733	732	744	446	411	475	513	590	460	439	408

unbehandelte Partikel									Konzentration: 41,7 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	273	356	461	388	362	174	253	316	108	118	182	148	76	91	64	156
xh	291	270	282	384	383	250	229	186	111	64	78	98	125	50	53	39
y	259	241	283	283	303	286	341	274	70	107	73	75	78	68	128	105

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 42,4 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	1443	1542	1501	1490	1321	1392	1364	1433	464	643	439	422	380	480	411	442
xh	1351	1546	1244	1463	1410	1514	1584	1177	417	534	249	223	292	474	557	159
y	973	1035	1092	1140	1437	1530	1342	990	213	440	495	274	483	762	541	315

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 44,8 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	1190	1029	1349	1397	1065	1188	1233	836	610	444	871	546	490	703	754	383
xh	978	965	1306	1198	1012	939	1001	927	304	409	659	451	294	226	410	392
y	992	974	953	1083	1158	1260	1696	1674	311	427	400	395	534	699	1018	1042

unbehandelte Partikel									Konzentration: 41,7 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	1467	1455	1259	1262	1178	1403	1636	1348	471	350	306	215	278	435	643	440
xh	1291	1172	1175	1165	1199	1194	1230	1151	279	241	183	182	203	260	283	222
y	1282	1310	1337	1650	2035	1724	1641	1427	263	295	472	502	496	578	671	566

## Stationäre pulse-incubation - Chase-incubation unter Flussbedingungen (1911µm/s)

### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 41,7 µg/ml

	pulse	chase
xv	3995 3264 3503 3100 2918 3317 3206 3321	3807 3121 3254 2931 2742 3127 3184 3120
xh	2460 3060 3594 2621 2287 2259 1878 1266	2299 2894 3430 2480 2094 2073 1764 1132
y	1875 1934 2051 2730 3008 3274 3514 3124	1594 1604 1874 2486 2766 3004 3316 2940

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 45,2 µg/ml

	pulse	chase
xv	2815 2653 2762 2388 2296 2629 2506 2105	2740 2555 2612 2260 2196 2510 2379 2106
xh	2359 2887 3389 2625 1974 2207 2412 2560	2284 2795 3313 2500 1912 2076 2242 2389
y	2264 1780 1967 2794 2969 3263 3431 3459	2150 1722 1775 2577 2751 3118 3271 3279

unbehandelte Partikel

Konzentration: 40,4 µg/ml

	pulse	chase
xv	1781 1332 1381 1793 1963 1903 1519 1333	1509 1267 1212 1533 1607 1614 1263 1142
xh	2081 1671 1197 1249 1280 1009 893 1201	1807 1459 1058 1159 1109 852 666 903
y	1907 1162 1638 2037 2579 3161 3159 2524	1588 896 1320 1647 2293 2823 2848 2244

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 41,7 µg/ml

	pulse	chase
xv	2138 2120 2945 2560 2434 2231 2162 2350	2095 2038 3012 2405 2255 1993 1878 2184
xh	1898 1854 2170 1757 1770 1674 1186 831	1949 1962 2062 1775 1854 1577 968 474
y	2168 2005 2592 3114 2646 2400 2408 2468	2094 1959 2559 2934 2410 2154 2388 2334

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 45,2 µg/ml

	pulse	chase
xv	1891 1856 1539 1429 1759 1470 998 935	1759 1683 1456 1380 1658 1392 840 679
xh	2443 2704 1955 1676 1507 1729 2369 1739	2443 2596 1902 1503 1369 1193 1580 958
y	2189 1629 1819 2152 2591 2930 2659 2100	1965 1471 1683 2004 2481 2755 2496 1944

unbehandelte Partikel

Konzentration: 40,4 µg/ml

	pulse	chase
xv	1315 1596 1237 1228 1187 1167 1381 928	919 1246 851 915 684 714 885 468
xh	819 992 789 477 640 631 639 395	521 784 561 184 393 314 299 68
y	1044 1137 1210 1174 1496 2105 2775 1988	668 729 853 846 1153 1912 2470 1656

## Pulse-incubation unter Flussbedingungen - Chase-incubation unter Flussbedingungen

### 1. Versuch

(306µm/s)

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 44,0 µg/ml

	pulse								chase							
xv	1682	1106	1282	1659	934	844	802	765	1300	527	664	1005	583	619	594	690
xh	1282	1288	1391	1505	1444	1216	1211	1111	1065	1021	969	1021	842	911	903	955
y	1298	1074	979	1147	1458	1649	1685	2037	1310	817	782	806	1218	1480	1412	1984

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 43,1 µg/ml

	pulse								chase							
xv	930	708	905	1436	562	531	532	546	573	243	313	515	307	182	186	285
xh	748	775	790	646	721	656	718	1041	512	468	426	298	281	400	505	762
y	834	687	634	718	967	972	825	957	622	333	314	393	612	720	525	843

unbehandelte Partikel

Konzentration: 42,6 µg/ml

	pulse								chase							
xv	1408	1183	986	1030	777	590	619	645	760	320	370	504	282	230	195	402
xh	958	827	750	733	685	648	615	692	603	364	358	400	313	273	212	329
y	909	788	808	912	1104	938	923	1166	508	386	404	477	480	344	435	778

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 44,0 µg/ml

	pulse								chase							
xv	1680	1432	1417	1484	1651	1470	1663	1374	1590	1290	1289	1263	1214	1304	1461	1213
xh	1041	1080	915	1166	1310	1309	1015	511	704	790	678	873	1040	984	668	271
y	1052	1386	1384	1474	1464	1362	1535	1656	805	1049	1053	1228	1209	1113	1253	1503

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 43,1 µg/ml

	pulse								chase							
xv	930	708	905	1436	562	531	532	546	573	243	313	515	307	182	186	285
xh	748	775	790	646	721	656	718	1041	512	468	426	298	281	400	505	762
y	834	687	634	718	967	972	825	957	622	333	314	393	612	720	525	843

unbehandelte Partikel

Konzentration: 42,6 µg/ml

	pulse								chase							
xv	325	328	296	412	448	374	326	311	104	97	87	92	143	94	82	79
xh	388	351	375	404	426	316	290	282	92	92	93	116	77	63	61	50
y	371	344	386	448	424	367	356	342	85	75	90	104	95	105	76	99

## Pulse-incubation unter Flussbedingungen - Chase-incubation unter Flussbedingungen

### 1. Versuch

(849µm/s)

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 42,4 µg/ml

	pulse								chase							
xv	1198	1149	1133	1125	1256	1198	905	739	956	919	860	783	1054	1025	748	617
xh	744	876	720	635	832	690	601	755	521	620	492	356	470	482	408	541
y	1145	1061	865	733	829	1017	1028	1049	907	744	597	457	511	729	858	792

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 44,8 µg/ml

	pulse								chase							
xv	909	1047	911	844	875	694	637	548	644	636	624	416	434	474	497	289
xh	629	784	1036	692	818	786	762	575	380	570	836	447	514	529	451	336
y	638	773	964	1113	1385	1339	794	740	372	468	618	630	604	631	476	397

unbehandelte Partikel

Konzentration: 41,7 µg/ml

	pulse								chase							
xv	685	621	634	846	804	443	544	546	302	249	319	203	177	140	221	278
xh	523	627	445	661	954	937	777	587	322	393	264	371	512	623	461	370
y	557	545	581	689	981	1392	544	639	303	310	284	437	341	562	217	242

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 42,4 µg/ml

	pulse								chase							
xv	1204	1263	1187	1571	1242	1184	1187	853	866	962	932	970	744	878	921	553
xh	1133	1388	1215	944	935	661	650	709	809	955	834	649	605	352	330	365
y	879	908	1032	1055	883	947	1136	1383	554	650	788	861	646	667	919	1026

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 44,8 µg/ml

	pulse								chase							
xv	948	1157	1218	1109	1575	1307	1663	1440	613	842	858	816	825	935	1262	1036
xh	1465	1427	1352	1017	671	676	397	416	858	992	815	443	308	342	113	171
y	1399	1135	1368	1125	761	1329	1063	1008	888	796	1079	850	520	786	733	723

unbehandelte Partikel

Konzentration: 41,7 µg/ml

	pulse								chase							
xv	496	539	534	760	841	1018	1039	495	197	165	231	261	290	700	726	205
xh	461	506	716	770	637	570	437	361	264	286	372	440	307	310	179	145
y	329	496	635	708	750	1412	531	473	186	231	299	398	354	371	208	166

## Pulse-incubation unter Flussbedingungen - Chase-incubation unter Flussbedingungen

### 1. Versuch

(1911µm/s)

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 41,7 µg/ml

	pulse								chase							
xv	755	340	601	718	875	687	424	505	682	261	467	574	762	573	305	431
xh	906	886	807	681	563	433	297	312	786	770	693	581	432	299	192	220
y	896	989	830	836	1202	1166	859	907	745	851	667	702	1024	933	683	793

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 45,2 µg/ml

	pulse								chase							
xv	1352	1414	929	949	996	1142	1142	567	1239	1218	791	830	846	1040	989	425
xh	672	916	861	970	730	566	123	106	597	816	740	845	680	484	110	77
y	1244	1042	1006	1216	1386	1958	1735	1732	1054	868	885	1074	1200	1567	1476	1464

unbehandelte Partikel

Konzentration: 40,4 µg/ml

	pulse								chase							
xv	550	597	631	565	691	541	222	83	403	501	513	490	553	430	147	54
xh	922	299	282	361	417	263	302	325	810	224	232	266	283	204	237	251
y	1006	722	700	866	914	1252	1086	849	771	568	581	682	708	796	816	656

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel

Konzentration: 41,7 µg/ml

	pulse								chase							
xv	1017	980	1117	916	1171	1022	914	560	993	972	1139	911	1131	1016	863	494
xh	755	858	896	772	705	887	709	585	737	852	884	752	679	907	695	544
y	925	876	844	1031	1052	1135	1301	1315	965	824	791	972	975	1085	1268	1257

Glycin-modifizierte Partikel

Konzentration: 45,2 µg/ml

	pulse								chase							
xv	1420	1189	1118	1027	1091	1013	960	438	1484	1234	1152	1002	1099	1031	922	397
xh	1514	1404	1529	1406	1552	1171	868	210	1506	1369	1563	1401	1493	1171	849	145
y	1589	1573	1772	1826	1672	1779	1622	1503	1538	1605	1659	1796	1651	1788	1584	1517

unbehandelte Partikel

Konzentration: 40,4 µg/ml

	pulse								chase							
xv	567	434	471	405	358	205	113	59	496	370	389	334	304	150	75	20
xh	723	538	599	555	333	269	266	106	551	487	523	484	288	210	219	65
y	963	818	713	706	647	478	537	519	774	628	575	599	641	473	466	425

### 8.3 Zellversuche SV-HUC-1

Der Blindwert des Chipsystems mit SV-HUC-1-Monolayer beträgt 13,9 unter den oben genannten Messbedingungen.  $X_{\text{vorne}}$  (xv),  $x_{\text{hinten}}$  (xh) und y entsprechen den drei Längen des quadratischen Kanals, die vom Messraster erfasst werden.

#### 8.3.1 Rohdaten zu den 1µm Partikeln

**10min pulse-incubation unter Flussbedingungen - 10min chase-incubation unter Flussbedingungen**

##### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 39,1 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	253	239	259	262	249	279	275	354	232	233	243	229	221	244	241	339
xh	298	238	270	268	224	255	341	324	254	208	218	143	146	187	279	289
v	286	208	223	313	319	317	280	266	223	145	160	212	287	307	251	236

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 42,8 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	148	140	128	132	136	160	130	114	122	118	104	131	117	134	109	110
xh	209	160	169	137	129	117	127	105	181	130	141	104	103	90	102	82
y	203	173	180	141	132	149	143	154	177	148	147	119	107	129	115	118

unbehandelte Partikel									Konzentration: 45,3 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	82	92	101	99	89	79	73	73	58	75	74	76	54	61	52	49
xh	87	81	78	82	79	72	75	77	43	43	48	50	45	45	41	46
y	127	118	132	178	161	156	126	96	79	72	80	121	106	116	84	67

##### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 39,1 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	384	354	348	363	348	362	384	426	386	351	337	360	359	368	394	435
xh	528	359	328	311	358	314	400	345	545	356	328	311	361	333	410	341
y	wurde nicht gemessen								462	359	304	338	333	336	388	392

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 42,8 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	224	202	194	190	197	196	182	191	209	180	181	173	196	199	187	208
xh	281	216	171	137	157	175	164	184	266	205	158	121	134	153	142	155
y	wurde nicht gemessen								243	209	194	208	202	182	188	229

unbehandelte Partikel									Konzentration: 45,3 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	101	98	99	106	100	104	115	115	91	82	84	81	82	81	89	94
xh	94	98	93	114	98	103	100	114	62	67	70	86	70	73	72	92
y	wurde nicht gemessen								86	84	73	84	92	115	146	117



## 10min stationäre pulse-incubation - 10min chase-incubation unter Flussbedingungen

### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 44,2 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	166	175	172	177	180	179	183	233	29	29	28	32	28	30	42	95
xh	166	172	170	170	181	191	184	173	29	29	30	33	42	52	55	43
y	179	164	156	152	168	161	166	163	30	32	27	24	28	26	32	31

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 40,0 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	158	157	163	162	167	177	174	179	24	25	28	33	32	37	41	40
xh	153	163	159	159	159	164	175	161	25	33	35	35	39	43	42	34
y	148	157	147	155	179	173	163	189	28	30	29	32	28	27	32	29

unbehandelte Partikel									Konzentration: 42,5 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	153	162	157	148	154	165	168	153	25	72	25	25	26	27	25	27
xh	147	154	158	162	153	161	163	155	21	27	25	23	27	31	31	25
y	159	154	138	138	147	152	163	155	28	29	25	24	22	29	28	26

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 44,2 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	129	132	131	132	148	144	148	170	36	37	37	36	42	46	63	83
xh	120	132	118	113	128	127	131	141	29	41	28	23	30	39	40	42
y	116	127	116	127	127	122	123	127	30	28	27	27	33	29	33	35

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 40,0 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	103	102	100	108	103	110	119	112	25	25	25	27	27	30	36	32
xh	100	109	97	103	109	113	121	122	22	22	25	27	30	32	36	41
y	98	105	98	106	98	99	100	102	25	25	28	32	23	29	25	22

unbehandelte Partikel									Konzentration: 42,5 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	67	70	72	70	69	70	66	62	19	17	18	18	16	16	19	19
xh	66	69	68	75	71	69	72	69	19	18	21	17	18	20	20	19
y	71	71	70	69	67	65	70	69	21	20	22	20	22	20	22	19

### 30min stationäre pulse-incubation - 10min chase-incubation unter Flussbedingungen

#### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 44,2 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	351	380	350	334	338	378	421	405	107	131	108	97	95	125	161	184
xh	314	317	323	328	325	342	472	383	107	85	90	92	97	111	230	157
y	341	333	336	333	361	353	389	410	115	79	96	95	116	121	126	121

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 40,0 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	204	192	204	222	211	227	231	219	81	70	82	100	96	108	102	102
xh	150	153	159	153	167	157	193	210	46	46	46	48	50	57	95	99
y	144	165	167	205	239	232	234	224	45	63	74	70	81	92	95	84

unbehandelte Partikel									Konzentration: 42,5 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	247	253	236	243	248	253	262	262	35	36	32	31	30	34	40	36
xh	232	260	244	247	251	262	260	241	29	31	32	34	37	46	46	52
y	232	241	233	229	234	256	259	262	31	33	35	39	45	60	38	38

#### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 44,2 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	182	202	205	200	189	220	281	253	62	72	72	73	62	74	141	130
xh	169	167	175	184	190	201	225	223	39	42	43	46	55	60	73	81
y	181	187	180	183	201	182	195	190	47	45	40	39	44	46	70	60

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 40,0 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	163	168	175	173	195	197	226	236	35	39	40	43	49	65	86	97
xh	174	176	184	189	199	215	225	205	31	33	34	45	47	66	77	63
y	168	165	167	174	171	163	170	174	32	36	32	35	30	35	35	33

unbehandelte Partikel									Konzentration: 42,5 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	176	182	179	173	176	181	203	181	42	49	39	38	34	41	58	55
xh	165	179	175	172	169	185	180	177	31	32	38	31	37	40	43	37
y	167	179	176	173	166	180	189	193	34	38	37	35	34	36	46	45

### 8.3.2 Rohdaten zu den 3µm Partikeln

**10min pulse-incubation unter Flussbedingungen - 10min chase-incubation unter Flussbedingungen**

#### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 41,6 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	326	326	293	327	306	278	239	212	278	279	216	265	245	209	178	177
xh	340	363	321	317	349	345	257	160	265	274	265	256	257	263	207	102
y	372	381	387	352	377	355	323	363	292	315	303	280	305	283	255	249

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 42,5 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	258	262	252	284	298	257	220	164	186	176	186	198	214	184	119	76
xh	235	226	245	285	312	249	157	136	158	151	180	177	187	166	71	50
y	283	291	269	332	338	316	263	293	212	206	171	193	196	214	159	193

unbehandelte Partikel									Konzentration: 43,0 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	76	89	79	84	61	62	60	65	34	35	35	30	27	32	27	23
xh	77	84	76	99	106	75	57	66	40	42	34	39	51	46	32	33
y	71	79	69	75	108	79	63	62	39	41	40	49	52	34	29	35

#### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 41,6 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	326	326	293	327	306	278	239	212	278	279	216	265	245	209	178	177
xh	340	363	321	317	349	345	257	160	265	274	265	256	257	263	207	102
y	372	381	387	352	377	355	323	363	292	315	303	280	305	283	255	249

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 42,5 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	258	262	252	284	298	257	220	164	186	176	186	198	214	184	119	76
xh	235	226	245	285	312	249	157	136	158	151	180	177	187	166	71	50
y	283	291	269	332	338	316	263	293	212	206	171	193	196	214	159	193

unbehandelte Partikel									Konzentration: 43,0 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	76	89	79	84	61	62	60	65	34	35	35	30	27	32	27	23
xh	77	84	76	99	106	75	57	66	40	42	34	39	51	46	32	33
y	71	79	69	75	108	79	63	62	39	41	40	49	52	34	29	35

# 10min stationäre pulse-incubation - 10min chase-incubation unter Flussbedingungen

## 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 40,7 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	110	142	114	124	117	111	92	125	66	102	60	75	70	68	52	80
xh	121	121	119	120	133	116	124	113	94	85	80	78	72	82	91	73
y	155	114	102	95	136	132	124	125	115	87	61	64	95	97	90	96

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 41,5 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	84	59	67	72	67	56	49	56	31	27	31	35	27	23	23	25
xh	79	81	73	75	81	65	62	67	43	43	38	31	33	28	30	31
y	72	63	62	68	69	65	77	79	42	31	31	28	30	33	33	31

unbehandelte Partikel									Konzentration: 43,3 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	68	58	57	55	56	67	50	57	46	24	29	28	30	43	34	29
xh	79	60	65	92	102	112	71	61	54	41	41	58	44	48	37	39
y	74	68	61	83	93	57	64	78	44	34	34	40	52	35	38	52

## 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 40,7 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	81	79	76	87	108	102	97	99	25	22	27	34	32	33	34	34
xh	79	94	104	94	128	101	75	82	34	31	29	33	35	34	29	27
y	94	88	106	95	91	83	92	98	43	38	33	31	35	30	33	43

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 41,5 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	100	111	113	124	115	106	102	101	33	30	26	26	26	33	22	26
xh	127	112	123	117	137	102	90	94	45	36	33	31	24	28	27	26
y	116	115	112	104	93	100	98	109	36	32	27	25	29	21	19	25

unbehandelte Partikel									Konzentration: 43,3 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	86	87	72	93	92	91	95	113	32	30	28	32	32	30	35	44
xh	88	88	90	98	93	83	98	95	32	27	33	32	41	27	34	36
y	122	103	108	102	94	85	90	86	46	33	36	36	41	33	27	28

### 30min stationäre pulse-incubation - 10min chase-incubation unter Flussbedingungen

#### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 40,7 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	342	373	396	442	417	394	347	326	229	279	299	340	292	278	211	198
xh	371	404	398	419	469	497	446	396	273	294	307	311	336	319	275	213
y	455	445	422	381	349	310	257	254	336	296	273	264	241	227	166	167

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 41,5 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	320	265	227	226	257	217	210	240	188	135	95	95	101	94	83	96
xh	351	309	270	300	324	238	175	209	233	167	143	119	126	98	55	60
y	421	353	314	337	313	262	286	322	261	207	171	162	148	110	159	215

unbehandelte Partikel									Konzentration: 43,3 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	153	140	142	168	220	204	207	215	83	58	65	85	99	118	101	110
xh	235	169	163	178	237	196	184	236	129	82	79	84	110	99	91	108
y	268	207	206	246	217	155	157	164	142	124	119	150	132	91	89	93

#### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 40,7 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	307	284	276	283	274	293	308	348	194	176	158	156	126	129	132	70
xh	326	286	284	286	257	301	289	313	141	154	160	173	142	151	137	163
y	386	375	392	395	383	341	270	261	175	187	211	249	268	202	150	134

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 41,5 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	241	196	201	233	245	232	214	230	132	93	91	91	109	110	82	78
xh	235	226	251	272	239	201	175	130	114	104	92	71	36	50	65	47
y	255	208	203	198	208	286	242	241	145	111	105	104	117	114	112	143

unbehandelte Partikel									Konzentration: 43,3 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	254	200	189	204	269	283	212	213	126	96	74	80	117	149	96	117
xh	357	290	237	299	307	206	250	210	238	183	136	117	117	109	154	115
y	368	298	293	271	265	302	312	275	243	187	185	143	159	134	159	162

### 8.3.3 Rohdaten zu den 6µm Partikeln

#### 10min pulse-incubation unter Flussbedingungen - 10min chase-incubation unter Flussbedingungen

##### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 42,4 µg/ml								
	pulse									chase							
xv	844	773	801	745	726	725	634	646	810	792	786	710	718	689	623	592	
xh	967	1022	892	801	776	782	716	448	976	1024	883	732	458	597	745	437	
y	848	785	768	776	983	977	960	840	865	721	814	801	1007	1004	943	853	

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 41,9 µg/ml								
	pulse									chase							
xv	783	780	850	864	779	680	554	389	752	750	816	892	684	645	508	322	
xh	713	687	821	836	809	802	709	361	726	677	844	841	842	708	351	50	
y	805	785	828	822	1004	844	692	671	781	745	851	811	998	846	666	637	

unbehandelte Partikel									Konzentration: 41,3 µg/ml								
	pulse									chase							
xv	534	526	470	675	517	371	396	243	462	458	415	655	433	352	291	190	
xh	653	626	598	623	676	491	393	285	629	584	551	580	650	451	327	133	
y	601	661	609	622	696	599	532	562	566	634	573	582	661	551	515	526	

##### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 40,3 µg/ml								
	pulse									chase							
xv	1009	925	877	1000	674	583	521	379	996	918	849	937	670	531	468	348	
xh	1232	985	931	990	948	1079	875	501	1203	940	900	967	955	1071	838	474	
y	848	785	768	776	983	977	960	840	899	826	688	772	927	890	867	844	

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 39,9 µg/ml								
	pulse									chase							
xv	857	812	827	947	735	548	400	476	841	806	836	948	736	530	361	437	
xh	802	757	709	844	896	822	688	391	792	762	690	828	868	786	672	387	
y	805	785	828	822	1004	844	692	671	891	904	882	933	892	890	849	837	

unbehandelte Partikel									Konzentration: 37,3 µg/ml								
	pulse									chase							
xv	350	308	291	254	265	284	146	139	286	263	253	205	215	172	96	88	
xh	251	280	254	205	260	224	231	98	203	223	204	165	208	173	193	63	
y	601	661	609	622	696	599	532	562	240	201	229	249	214	265	254	305	

## 10min stationäre pulse-incubation - 10min chase-incubation unter Flussbedingungen

### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 40,3 µg/ml								
	pulse									chase							
xv	1452	1381	1331	1655	1378	1240	1390	1231		1416	1345	1326	1654	1364	1217	1411	1189
xh	1228	1002	1065	1080	1095	973	1079	979		1208	992	1049	1052	1036	941	1075	963
y	1232	1411	1189	1362	1251	1425	1299	1194		1244	1409	1209	1374	1230	1446	1311	1188

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 39,9 µg/ml								
	pulse									chase							
xv	982	878	740	866	762	624	737	792		972	855	691	828	738	606	700	776
xh	898	934	964	1078	1242	1003	1074	983		885	921	956	1080	1248	997	1054	990
y	1364	1451	1419	1324	1375	1024	934	988		1373	1469	1424	1309	1384	993	919	995

unbehandelte Partikel									Konzentration: 37,3 µg/ml								
	pulse									chase							
xv	423	402	350	451	313	305	321	450		324	304	232	294	214	185	212	329
xh	499	407	411	467	445	368	385	401		408	323	348	347	348	255	281	270
y	649	619	589	557	751	338	339	379		497	479	447	352	289	248	259	289

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 40,3 µg/ml								
	pulse									chase							
xv	892	904	970	911	966	896	1023	1061		897	886	943	946	917	859	1008	1025
xh	1015	1064	1054	1144	1028	1310	1213	1342		1006	1039	1022	1114	1010	1317	1200	1282
y	1339	1163	953	872	1118	1201	1152	1165		1336	1159	888	830	1126	1215	1208	1174

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 39,9 µg/ml								
	pulse									chase							
xv	848	705	933	1090	1191	839	1009	1023		800	670	896	1062	1214	781	1016	975
xh	907	655	718	672	1004	890	496	221		848	609	648	624	922	860	405	105
y	878	758	554	668	641	709	845	965		832	759	528	610	545	636	775	933

unbehandelte Partikel									Konzentration: 37,3 µg/ml								
	pulse									chase							
xv	111	105	144	127	116	142	131	127		66	47	82	80	64	108	67	72
xh	285	216	258	257	231	221	185	189		226	149	164	175	175	146	137	117
y	247	158	149	129	113	125	115	131		195	88	79	63	42	52	65	60

### 30min stationäre pulse-incubation - 10min chase-incubation unter Flussbedingungen

#### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 40,3 µg/ml								
	pulse									chase							
xv	1969	2282	2390	2429	2573	2369	2002	2111		1886	2270	2340	2412	2517	2369	1958	2080
xh	2288	2455	2337	2104	2041	1686	1528	1304		2213	2412	2284	2053	1985	1662	1499	1252
y	1737	1842	1986	1650	1612	1467	1236	1002		1657	1754	1873	1578	1537	1432	1174	926

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 39,9 µg/ml								
	pulse									chase							
xv	1933	1933	1978	1932	1721	1650	1562	1566		1893	1891	1956	1882	1678	1595	1512	1480
xh	2291	2326	2247	2069	1955	1814	1660	1727		2242	2254	2251	2033	1918	1796	1618	1689
y	2495	2033	1796	1728	1821	1767	2011	2079		2496	2005	1785	1747	1793	1806	1981	2083

unbehandelte Partikel									Konzentration: 37,3 µg/ml								
	pulse									chase							
xv	497	487	359	481	425	365	355	397		425	436	295	428	364	317	324	358
xh	491	381	357	270	260	289	277	372		425	358	317	238	217	243	219	307
y	533	413	341	385	438	419	407	412		381	364	302	330	383	366	345	345

#### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 45,2 µg/ml								
	pulse									chase							
xv	3557	3859	4052	3379	2408	2330	2648	2488		3618	3891	4142	3429	2412	2341	2700	2543
xh	3471	3666	3660	3560	3641	2899	2868	2840		3522	3728	3702	3667	3753	2895	2972	2873
y	2151	2070	2167	2718	2485	1826	1722	2696		2083	2000	2192	2692	2552	1799	1613	2582

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 37,6 µg/ml								
	pulse									chase							
xv	2417	2704	2792	2499	1891	2176	2401	2464		2450	2694	2809	2466	1816	2125	2366	2451
xh	2729	2935	1897	1444	1472	1587	1296	1902		2765	2918	1833	1393	1412	1529	1246	1841
y	2528	2260	2611	2711	2257	2605	3064	2291		2470	2230	2582	2615	2164	2558	3000	2231

unbehandelte Partikel									Konzentration: 37,2 µg/ml								
	pulse									chase							
xv	959	1109	814	828	982	774	888	1044		808	941	629	568	598	542	690	773
xh	1263	1105	914	712	820	603	599	337		1154	944	797	453	469	398	422	179
y	1264	1294	1194	1135	917	829	977	931		1135	1148	1051	963	765	662	836	725



### 8.3.4 Rohdaten zu den 10µm Partikeln

#### 10min pulse-incubation unter Flussbedingungen - 10min chase-incubation unter Flussbedingungen

##### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 43,5 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	327	257	260	316	196	241	346	181	334	248	244	301	205	259	337	179
xh	530	459	336	370	265	250	273	223	58	60	196	302	242	227	248	197
y	488	496	406	251	334	381	279	338	150	393	367	222	311	353	278	297

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 43,3 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	145	127	67	69	101	149	175	89	129	104	67	74	101	133	161	88
xh	203	232	172	123	117	126	106	158	127	150	146	115	111	116	94	142
y	288	230	246	186	147	135	343	238	177	59	121	145	130	126	170	158

unbehandelte Partikel									Konzentration: 42,6 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	395	129	147	264	263	270	288	320	370	97	130	248	243	260	256	235
xh	309	337	382	310	314	263	238	248	286	301	307	230	286	229	214	214
y	450	426	346	374	354	340	340	400	370	342	162	87	223	310	330	358

##### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 43,5 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	473	287	351	408	419	477	443	350	412	287	324	390	393	442	449	333
xh	264	290	357	435	343	325	372	387	231	241	316	397	301	317	335	360
y	488	496	406	251	334	381	279	338	475	304	293	285	310	292	300	378

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 43,3 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	234	104	152	132	134	214	255	268	231	122	129	117	155	198	257	276
xh	294	333	266	208	166	178	112	91	306	332	256	193	162	177	98	75
y	288	230	246	186	147	135	343	238	238	212	218	219	176	171	209	220

unbehandelte Partikel									Konzentration: 42,6 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	721	643	444	168	214	262	264	244	677	552	387	118	153	215	206	154
xh	496	422	430	405	479	520	386	475	416	372	381	395	392	409	311	411
y	450	426	346	374	354	340	340	400	448	312	348	447	510	454	514	553

## 10min stationäre pulse-incubation - 10min chase-incubation unter Flussbedingungen

### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 35,1 µg/ml								
	pulse									chase							
xv	358	475	381	295	305	430	804	787		247	379	180	149	168	307	687	683
xh	602	797	795	805	729	708	1008	644		457	636	687	678	569	597	915	597
y	520	702	745	580	660	550	474	412		457	629	575	363	335	344	383	345

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 34,7 µg/ml								
	pulse									chase							
xv	224	264	208	203	275	194	265	216		67	79	58	78	77	95	140	88
xh	353	299	280	230	259	347	367	346		206	171	170	88	109	239	260	115
y	374	287	186	427	809	218	228	298		199	171	115	97	118	90	131	101

unbehandelte Partikel									Konzentration: 34,8 µg/ml								
	pulse									chase							
xv	268	246	144	222	133	177	299	350		195	156	97	126	83	80	167	247
xh	320	325	388	392	336	356	419	265		219	265	306	275	291	272	303	159
y	324	400	292	288	283	210	241	356		230	295	215	134	102	70	145	254

### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 35,1 µg/ml								
	pulse									chase							
xv	605	358	300	237	237	260	367	424		569	264	197	138	146	154	339	400
xh	821	773	686	618	870	800	875	711		768	634	542	501	701	626	709	619
y	864	748	838	765	729	567	443	610		728	627	713	656	540	435	370	497

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 34,7 µg/ml								
	pulse									chase							
xv	172	169	150	128	133	228	170	249		89	128	105	95	116	172	141	198
xh	288	274	183	181	152	125	105	143		251	231	136	108	102	71	69	137
y	349	304	307	383	306	338	234	172		313	241	276	270	318	419	182	86

unbehandelte Partikel									Konzentration: 34,8 µg/ml								
	pulse									chase							
xv	222	194	196	206	141	203	254	191		184	105	145	106	94	145	215	136
xh	357	253	248	252	146	225	350	284		289	212	198	209	113	198	274	227
y	418	321	153	195	139	200	282	265		367	277	119	163	113	128	251	242

### 30min stationäre pulse-incubation - 10min chase-incubation unter Flussbedingungen

#### 1. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 35,1 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	1891	1301	1145	1085	994	1575	1965	1899	1568	1066	829	802	729	1154	1692	1589
xh	1247	1366	1414	1727	2062	1662	1248	1226	978	1131	1086	1382	1652	1288	912	813
y	991	1477	1609	1837	2225	1935	1666	1777	845	1267	1220	1386	1650	1561	1348	1511

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 34,7 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	972	1009	786	712	604	557	811	1135	683	720	506	340	276	303	579	764
xh	620	613	683	577	472	492	501	624	387	377	425	275	223	243	274	250
y	752	757	782	820	753	925	995	882	457	464	490	518	450	479	738	610

unbehandelte Partikel									Konzentration: 34,8 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	894	1120	932	953	1036	887	1008	863	717	982	824	809	843	717	835	644
xh	801	729	837	887	1080	1087	712	770	608	559	597	784	896	914	524	630
y	1000	650	640	1036	870	788	839	955	850	551	480	573	575	540	682	776

#### 2. Versuch

WGA-modifizierte Partikel									Konzentration: 35,1 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	1544	1825	1549	1557	1450	1481	1915	2146	1249	1594	1379	1228	1144	1287	1610	1850
xh	1912	1746	1001	911	1122	1310	1589	1280	1665	1592	792	691	910	1094	1288	1076
y	941	1048	1277	1379	1454	1711	1697	1434	620	690	1003	1000	1133	1323	1242	1046

Glycin-modifizierte Partikel									Konzentration: 34,7 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	863	817	794	564	763	681	774	808	733	701	695	410	477	516	607	723
xh	1030	972	665	645	538	722	1206	807	864	855	502	512	429	574	936	640
y	1143	1236	954	867	852	865	1337	1104	1033	1112	809	770	686	711	1164	1025

unbehandelte Partikel									Konzentration: 34,8 µg/ml							
	pulse								chase							
xv	821	723	652	760	991	1007	1128	1064	696	645	568	673	828	931	1027	984
xh	1124	930	910	950	722	734	853	506	935	814	749	731	542	603	743	386
y	1381	1358	924	683	512	538	889	1021	1196	1236	839	665	459	420	765	873